

Univerzita Palackého v Olomouci

Lékařská fakulta

Stanovení ovariální rezervy u žen v  
optimálním reprodukčním věku a  
srovnání validity prediktivních markerů  
ovariální rezervy při stimulaci

Disertační práce

Determination of ovarian reserve in  
women at optimal reproductive age and  
evaluation of validity of predictive  
ovarian reserve markers in stimulation

Dissertation

Disertační práce

Studijní program: Gynekologie a porodnictví P5168/5103V000

Vedoucí práce: MUDr. Štěpán Machač, Ph.D.

Autor: MUDr. Marcel Štelcl

Olomouc 2018

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci na téma „Stanovení ovariální rezervy u žen v optimálním reprodukčním věku a srovnání validity prediktivních markerů ovariální rezervy při stimulaci“ vypracoval samostatně pod odborným dohledem školitele a uvedl jsem všechny použité podklady a literaturu.

V Olomouci dne .....

Podpis .....

## Poděkování

Rád bych zde poděkoval všem, kteří se podíleli na mém postgraduálním studiu a také mě v něm po celou dobu podporovali.

Rád bych poděkoval zejména MUDr. Štěpánu Machačovi, Ph.D., který mě na myšlenku postgraduálního studia nejen přivedl, ale po celou dobu studia byl mým školitelem a poskytl mi cenné rady, jak ve studiu postupovat, zejména v závěrečné fázi mě pak motivoval k dokončení práce.

Dále bych velmi rád poděkoval Mgr. Silvii Bělaškové, Ph.D., která mi nejen statisticky zpracovala data získaná při výzkumu, ale pokusila se mě i zasvětit do tajů statistiky a statistického hodnocení dat.

Další dík patří Mgr. Vítu Hubinkovi, který mi výrazně pomohl tím, že získaná data upravil do podoby, která umožnila jejich další zpracování. Také Ing. Helga Hromádková ze studijního oddělení si zaslouží poděkování za rady, jak si studium naplánovat a podporu ve chvílích skepse. Stejně tak MUDr. Taťána Rumpíková, Ph.D., mi předávala cenné rady ze svého studia, které mi pomohly práci dokončit.

Na závěr bych chtěl ještě poděkovat MUDr. Marku Koudelkovi, který mi na klinice Re-profit International umožnil výzkum zrealizovat a jako vedoucí představitel managementu vyčlenil prostředky, kterými byl celý můj výzkum financován. Závěrečné poděkování patří mojí rodině a blízkým za trpělivost a podporu v průběhu celého studia.

## Obsah

Seznam obrázků .....	6
Seznam tabulek.....	7
Seznam zkratk .....	8
1 Úvod.....	9
2 Současný stav problematiky .....	11
2.1 Současné poznatky o vývoji ovariálních folikulů .....	11
2.2 Ovarian aging.....	12
2.3 Poor ovarian response.....	13
2.4 Ovariální hyperstimulační syndrom .....	14
2.4.1 Léčba a prevence OHSS .....	15
2.5 Dostupné parametry pro měření ovariální rezervy.....	16
2.5.1 Folikulostimulační hormon (FSH) .....	16
2.5.2 Inhibin .....	18
2.5.3 Anti-Müllerian hormon (AMH) .....	19
2.5.4 Antral follicle count (AFC).....	26
2.6 Ovariální rezerva.....	28
3 Cíl práce .....	29
4 Materiál a metody .....	30
4.1 Výběr probandek .....	30
4.2 Stanovení AMH .....	30
4.3 Měření AFC .....	31
4.4 Stimulace rekombinantním FSH (rec. FSH).....	31
4.5 Odběr oocytů .....	31
4.6 Charakteristiky souboru .....	31
4.7 Statistická analýza .....	32

5	Výsledky.....	33
5.1	Výsledky statistické analýzy.....	35
5.1.1	Homogenita souboru.....	35
5.1.2	Závislost počtu získaných oocytů a MII oocytů na hladině AMH a hodnotě AFC.....	36
6	Diskuse.....	37
6.1	Algoritmy ke stanovení stimulační dávky FSH.....	39
6.2	Poradenství a plánování mateřství .....	41
6.3	Limity v interpretaci hodnot AMH a AFC .....	42
6.4	Srovnání dostupnosti a praktické využití AMH a AFC.....	44
6.5	Možnosti ovlivnění ovariální rezervy .....	44
7	Závěr.....	47
	Summary .....	48
	Použité prameny – odborná literatura .....	50
	Použité prameny – legislativní dokumenty.....	68

## Seznam obrázků

Obrázek 1: Vývoj folikulu ze stadia primord. folikulu do stadia dominantního folikulu .....	12
Obrázek 2: Molekula FSH navázaná na receptor .....	16
Obrázek 3: Průběh FSH v menstruačním cyklu .....	17
Obrázek 4: Křivka hladin Inhibinu v průběhu menstruačního cyklu.....	18
Obrázek 5: Syntéza a struktura AMH.....	19
Obrázek 6: Funkce AMH receptoru – receptoru pro TGF $\beta$ .....	20
Obrázek 7: Regulační funkce AMH v ovariu.....	21
Obrázek 8: Křivka vývoje hladin AMH od koncepce do menopauzy .....	22
Obrázek 9: Křivka vývoje hladin AMH v závislosti na věku .....	23
Obrázek 10: Antral follicle count .....	27
Obrázek 11: Distribuce počtu celkově získaných oocytů.....	34
Obrázek 12: Distribuce počtu MII oocytů .....	34
Obrázek 13: Užitečnost jednotlivých testů při předpovědi POR .....	39
Obrázek 14: Užitečnost parametrů AMH, věk, FSH při předpovědi OHSS a POR.....	40

## Seznam tabulek

Tabulka 1: Klasifikace OHSS podle Golana.....	15
Tabulka 2: Normální rozmezí AMH a AFC.....	26
Tabulka 3: Základní charakteristiky souboru (BMI, věk, použitá dávka rec. FSH) .....	32
Tabulka 4: Souhrnné výsledky .....	33
Tabulka 5: Souhrn lineárního smíšeného modelu pro celkový počet získaných oocytů.....	35
Tabulka 6: Souhrn lineárního smíšeného modelu pro celkový počet získaných oocytů.....	36
Tabulka 7: Dávkování follitropinu delta podle hodnot AMH a hmotnosti pacientky.....	41

## Seznam zkratk

AFC	– Antral follicle count
AMH	– Anti-Müllerian hormon
AUC	– Area under the curve
BMI	– Body mass index
BMP	– Bone morfogenetic protein (kostní růstový hormon)
CI	– Confidence interval
DHEA	– Dehydroepiandrosteron
DNA	– Deoxyribonukleová kyselina
E2	– Estradiol
ESHRE	– European Society of Human Reproduction and Embryology
FSH	– Folikulostimulační hormon
GnRH	– Gonadotropine-releasing hormon
hCG	– Human chorionic gonadotropin (těhotenský hormon)
HIV	– Human Immunodeficiency Virus
HTLV I, II	– Lidský T-lymfotropní virus typ 1, 2
IVF	– In vitro fertilizace (umělé oplození)
IU	– International unit
LH	– Luteinizační hormon
MII	– Metafáze II oocyty (zralý oocyt, oplozeníšchopný oocyt)
OHSS	– Ovariální hyperstimulační syndrom
PCOS	– Polycystic Ovary Syndrom
POR	– Poor ovarian response
REML	– Restricted maximum likelihood
ROC	– Receiver Operating Characteristic (křivka hodnotící užitečnost testu)
SD	– Směrodatná odchylka
STD	– Sexually transmitted diseases (sexuálně přenosné choroby)
TGF $\beta$	– Transforming growth factor (růstový faktor)
TSH	– Thyreotropní hormon



# 1 Úvod

Snaha o pochopení principů rozmnožování je stejně stará jako medicína samotná. Z novodobější historie lze zmínit objevy de Graafa (dominantní folikul) a van Leeuwenhoeka (spermatozoa) v 17. století. O asistované reprodukci v pravém slova smyslu lze hovořit od 30. let dvacátého století. Práce Gregory Pincuse, který se zabýval oplozováním králíčích oocytů in vitro a zkoumáním in vitro maturace oocytů, se později věnovala i oocytům lidským. Další rozvoj v oblasti reprodukční medicíny nastal v 60. letech, kdy byla objevena kapacitace spermií – Austin a Chang (Edwards, 2004), a vyvrcholil koncem 70. let narozením Luisy Brownové společným úsilím Edwardse a Steptoea. Objev preparátu clomifen citrát (1956) umožnil tehdejším specialistům první účinnou a snadno dosažitelnou ovariální stimulaci. Jakákoliv odpověď na stimulaci vaječnicků byla tehdy vítaná, nadměrná stimulace prakticky neznámá a vzácná (López, 2004; Kousta, 1997). Od 80. let dvacátého století farmaceutický průmysl nabídl možnost stimulovat preparáty s obsahem folikulostimulačního a luteinizačního hormonu (Garcia, 1983). Objevila se velká variabilita v počtech rostoucích folikulů a v počtech získaných oocytů u jednotlivých pacientek po stimulacích. Kliničtí lékaři začali mít potřebu odhadnout dávku aplikovaného léku tak, aby počet získaných oocytů byl optimální. Je zcela evidentní, že úspěšnost jednotlivého stimulovaného cyklu roste s rostoucím počtem získaných oocytů (Ji, 2013), protože je vyšší šance na získání kvalitního embrya. Na druhou stranu při vysokém počtu oocytů hrozí rozvoj ovariálního hyperstimulačního syndromu (OHSS). Dále se vyprofilovala určitá skupina pacientek, které nereagovaly na stimulaci vůbec nebo velmi málo – tzv. low responders. Pokud bychom dokázali spolehlivě předpovědět, do které skupiny bude která pacientka patřit, mohli bychom eliminovat zbytečně vynaložené náklady na léčbu, která nebude mít předpokládaný efekt nebo naopak eliminovat riziko zdravotních komplikací při přestimulování.

V souvislosti se společenským vývojem ve 21. století, kdy je téměř ve všech vyspělých zemích světa mateřství odkládáno do vyšších věkových kategorií (Porodnost a plodnost, Český statistický úřad, 2016), jsou lékaři svými pacientkami stavěni před otázku, jak dlouho ještě budou jejich vaječníky funkční a jak dlouho ještě mohou odkládat mateřství, aniž by

překročily svoji individuální hranici, kdy už otěhotnět nebude možné. Jde o stanovení tzv. ovariální rezervy.

Ukázalo se, že řízení dávky stimulačního preparátu podle hmotnosti pacientek, tak jako je tomu u jiných léčiv, selhává. Závislost reaktivity vaječnicků na věku je sice dobrým vodítkem, ale stále nedostatečným pro přesnější stanovení dávky. Reaktivita vaječnicků i ve stejné věkové a hmotnostní kategorii stále vykazuje příliš velký rozptyl. Proto se výzkum zaměřil na nalezení vhodných parametrů, které by pomohly více zpřesnit předpokládaný odhad počtu získaných oocytů. Těchto parametrů se nabízí celá řada, nejčastěji jsou zmiňovány sérové hladiny hypofyzárního folikulostimulačního hormonu (FSH), dále sérové hladiny ovariem produkovaných substancí Inhibinu, anti-Müllerian hormonu (AMH) a ultrazvukem měřeného parametru antral follicle count (AFC).

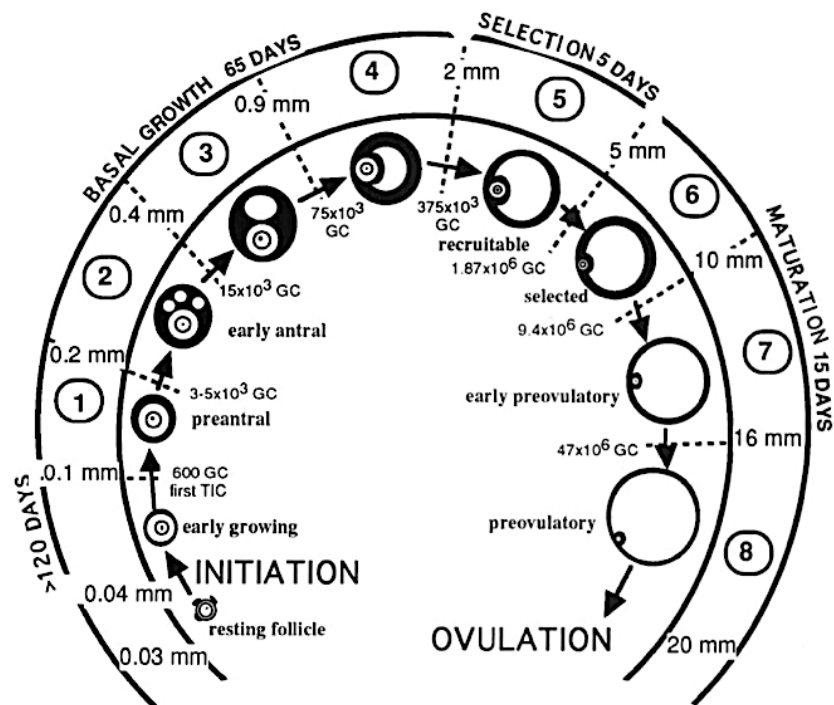
Autor se v dizertační práci věnuje právě parametrům AMH a AFC ve snaze určit jejich místo ve stanovení odpovědi na ovariální stimulaci rekombinantním folikulostimulačním hormonem (rec. FSH) a ovariální rezervy.

## 2 Současný stav problematiky

### 2.1 Současné poznatky o vývoji ovariálních folikulů

V lidském vaječníku začíná formování folikulů kolem 4. měsíce nitroděložního vývoje, některé folikuly začínají už v této době růst, nicméně většina z nich zůstane v „zásobě“ tzv. resting follicles. Zásoba folikulů je tvořena těmito stádii: primordiální folikul, intermediární folikul a malý primární folikul, přičemž maximum folikulů ze skupiny resting follicles je ve stadiu primordiálního folikulu. Primordiální folikul se skládá pouze ze samotné vaječné buňky a jedné vrstvy plochých granulózových buněk. Vývoj ze stadia primordiálního folikulu do malého primárního folikulu je velmi dlouhý – odhaduje se kolem 120 dní, přičemž vývoj folikulu výrazně zrychluje, když velikost jádra oocyty dosáhne 19  $\mu\text{m}$  a počet granulózových buněk cca 15. Již velmi časně se objevuje zona pellucida (primární folikul, rostoucí folikul). K tomuto vývoji může docházet v jakémkoliv věku ženy, i v průběhu dětství, v pubertě se počet folikulů, které vstupují do vývoje, významně zvyšuje. Nemalá část primordiálních folikulů se nezačne vyvíjet do vyšších stadií, ale podléhá atrezii. V dalších vývojových stádiích roste počet granulózových buněk a vytvářejí dvě vrstvy – theca interna a theca externa. Buňky theca externa se nijak nediferencují a buňky theca interna se diferencují v polyedrické buňky epiteloidního vzhledu (sekundární folikul, preantrální folikul). Do této fáze se folikul dostává bez cévního zásobení, později u folikulů sekundárních je každý folikul již zásoben jednou až dvěma arterioly, čímž se dostává folikul do přímého působení substancí obsažených v krevní plasmě. Postupně se začínají objevovat malé dutinky, jejichž spojením vznikne jednotné antrum folliculi (antrální stadia folikulů). Buňky, které obklopují oocyt, se stanou buňkami kumulárními.

Antrální folikuly velikosti 2 – 5 mm jsou folikuly, které podléhají selekci v luteální fázi, a z nich pak v časně folikulární fázi v následujícím cyklu dojde k vytvoření folikulu predominantního a finálně dominantního, který ovuluje. Vývoj folikulárních stadií je schematicky zobrazen na obrázku (Gougeon, 1996).



Obrázek 1: Vývoj folikulu ze stadia primordiálního folikulu do stadia dominantního folikulu (Gougeon, 1996)

## 2.2 Ovarian aging

Při formování vaječníku ve 20. týdnu nitroděložního vývoje vycestuje do ovariálního kortexu cca 10 milionů zárodečných buněk – oocytů. Jejich počet při narození se odhaduje na 1 – 2 miliony a v období menarché je jejich počet cca 300 000 – 500 000. Dozríváním a ovulací se spotřebuje kolem 400 oocytů a zbytek podléhá tzv. atrézii – přirozenému zániku. Odhaduje se, že během každého ovulačního cyklu takto zanikne kolem 1000 oocytů, přičemž po 35. roce života počet oocytů podléhajících atrézii během jednoho cyklu rapidně roste. V období menopauzy se počet resting follicle odhaduje na 100 – 1000 (Chang, 1998; Gougeon, 1996). Ovariální rezerva se s věkem snižuje, přičemž k výraznému urychlení stárnutí vaječníků dochází po 35. roce života ženy. Bez ohledu na rasu mají křivky přirozeného poklesu plodnosti v závislosti na věku na všech místech světa stejný průběh. Procesy stárnutí vaječníků jsou spojovány jednak se stupňujícím se počtem zlomů v DNA oocyty, což

vede ke strmému růstu genetických anomálií u žen na 35 let. Dalším faktorem stárnutí vaječnicků jsou degenerativní změny probíhající v cytoplasmě oocytů – degenerace mitochondriálního aparátu, dělicího vřeténka a dalších cytoplasmatických struktur (Broekmans, 2009).

V souvislosti s tím, že ženy v ekonomicky vyspělých zemích vstupují do mateřství stále v pozdějším věku (Český statistický úřad, 2016), ovariální faktor neplodnosti se stal v těchto zemích dominujícím faktorem a vytlačí do pozadí původní faktory, zejména faktor tubární (Řežábek, 2014), vyvstává stále větší potřeba měření ovariální rezervy kvůli odhadu další životnosti vaječnicků. Závislost poklesu počtu a kvality oocytů na věku je sice evidentní, přesto existují v každé věkové kategorii výrazné interindividuální rozdíly. Samotný věk je nedostatečným prediktorem nejen, co se týká aktuálních šancí na graviditu, ale i pro předpověď reakce vaječnicku na stimulaci v rámci IVF léčby. Nejpalčivější je tento problém ve věkové kategorii 35 – 40 let, ve které je řada žen, které s otěhotněním problém nemají, ale také nemalé procento žen, kterým už ovariální činnost rychle vyhasíná a otěhotnění se stává málo pravděpodobným.

## 2.3 Poor ovarian response

Poor ovarian response (POR) byl poprvé popsán Garciou v roce 1983 (Garcia, 1983), a to hned v první práci, která se zabývala stimulací pomocí FSH. V této publikaci byly ženy slabě reagující na stimulaci nazvány low responders – detekce růstu folikulů byla prováděna pomocí měření hladin estradiolu. Jedná se o slabou reakci vaječnicků na stimulaci, přičemž ani zvýšení stimulační dávky na maximum 300 – 450 IU (Rombauts, 2007) nevede k zisku většího počtu oocytů. Definice POR nebyla dlouho jednotná, až v roce 2011 pracovní skupina ESHRE pro poor ovarian response definovala kritéria pro stanovení této diagnózy. Všeobecný konsensus stanovuje tato tři kritéria (pro stanovení diagnózy je třeba naplnit alespoň dvě z nich), tzv. Boloňská kritéria pro POR (Ferraretti, 2011):

1. Pokročilý maternální věk ( $\geq 40$  let)
2. Předchozí POR ( $\leq 3$  oocyty získané při použití obvyklého stimulačního protokolu)

3. Znamky abnormální ovariální rezervy (např. AFC 5-7 antrálních folikulů, AMH  $\leq 1.1$  ng/ml)

Pokud dojde k POR dvakrát po sobě i při použití maximální stimulační dávky, je pacient definován jako poor (low) responder, aniž by splňoval kritérium pokročilého maternálního věku. Případy, kdy je pacientce více než 40 let a má známky abnormální ovariální rezervy, přičemž ještě neproběhla stimulace, takže POR nelze jednoznačně potvrdit, lze tento stav označit jako očekávaný POR.

## 2.4 Ovariální hyperstimulační syndrom

Ovariální hyperstimulační syndrom (OHSS) je iatrogenní komplikace ovariální stimulace, která souvisí obvykle s excesivní reakcí vaječníků, nicméně může u senzitivních jedinců vzniknout i při obvyklém počtu oocytů. Riziko OHSS však výrazně roste s počtem získaných oocytů a je vysoké při počtu získaných oocytů  $\geq 20$ . Proto je hranice 20 oocytů brána ve většině studií jako hranice pro přílišnou reakci vaječníků na stimulaci. Pro OHSS je typická abdominální bolest a distenze. V pokročilejších stádiích je ovariální hyperstimulační syndrom doprovázen tvorbou ascitu (dochází ke zvýšení permeability kapilárního řečiště na peritoneu). Nejtěžší forma OHSS je doprovázena extrémním ascitem a porušením permeability i na ostatních serózních površích v těle – hydrothorax, hydroperikard. Je doprovázen hemokoncentrací, která může vést až ke vzniku trombózy a embolie.

Rozvoj OHSS souvisí s extrémními hladinami hormonů a zásadním spouštěcím faktorem je hCG (používané k indukci ovulace). Rozvíjí se obvykle 2 – 3 dny po ovulaci (punkci). Pokud dojde k implantaci, hCG produkované trofoblastem průběh syndromu obvykle ještě zhorší, tzv. pozdní forma OHSS (Řežábek, 2002). Incidence střední formy OHSS se předpokládá mezi 3 – 6 %, těžká forma OHSS se může objevit v 0,1 – 3 % případů (Kumar, 2011).

Klasifikace OHSS byla dlouho nejednotná, první klasifikace vycházely pouze z hladin hormonů a ze subjektivních stesků pacientky, s rozvojem ultrazvukové diagnostiky se objevily klasifikace, které berou v úvahu také velikosti ovaríí. Nyní je všeobecně přijímaná Golanova klasifikace z roku 1989 (Golan, 2009).

**Tab. 1: Klasifikace OHSS podle Golana (Golan, 2009)**

<b>Mírný OHSS</b>	
Grade 1	Abdominální distenze a dyskomfort.
Grade 2	Abdominální distenze a dyskomfort + nauzea, zvracení/průjem, ovaria zvětšená do na 5 – 12 cm.
<b>Střední OHSS</b>	
Grade 3	Je spojen s výše zmíněnými klinickými příznaky a ultrazvukově detekovatelným ascitem.
<b>Těžký OHSS</b>	
Grade 4	Ascites je klinicky patrný.
Grade 5	Přidávají se změny v krevním objemu, laboratorní známky hemokoncentrace, abnormality hemokoagulace, známky snížené renální perfuze a funkce. Velikost ovarií nad 12 cm. Možná přítomnost hydrothoraxu a hydroperikardu.

### 2.4.1 Léčba a prevence OHSS

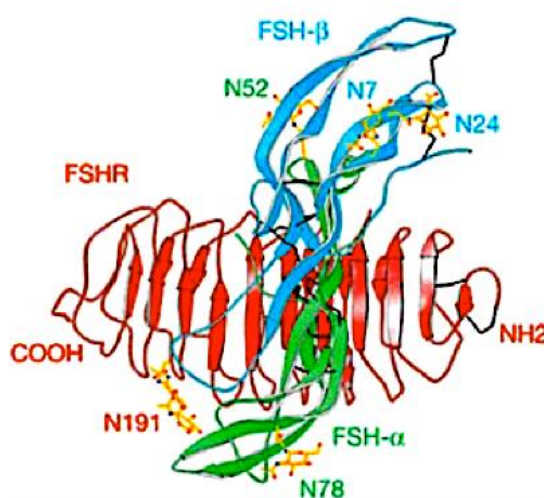
Léčba již rozvinutého OHSS je pouze symptomatická, kauzální terapie není známa. Spočívá v doplňování krevního objemu, hrazení ztrát albuminu, v opakovaných punkcích ascitu a v prevenci trombembolie.

Vzhledem k absenci účinné terapie OHSS je nutná jeho prevence, která spočívá zejména v optimální stimulaci a vyhnutí se excesivní reakci ovarií – nutnost odhadnutí správné stimulační dávky FSH. Novým přístupem k prevenci OHSS je eliminace hCG při indukci ovulace. Nejnověji je s výhodou k indukci ovulace používán agonista gonadoliberu, který flair up efektem vyvolá LH peak z hypofýzy. Této strategie je možno použít při vysokém počtu rostoucích folikulů zjištěným při folikulometrii (je možno ji využít pouze v antagonistických typech protokolů). Tento postup zcela eliminuje ovariální hyperstimulační syndrom (Griesinger, 2006). Bohužel tímto postupem dochází k časně luteolýze vlivem hypofyzárního útlumu a poklesu LH a tím ke zhoršení implantačního potenciálu endometria. Nové technologie kryoprezervace embryí (tzv. vitifikace) umožňují zachovat velmi dobrou kvalitu embrya i po jeho rozmrazení. Tzv. freeze all strategy (Roque, 2017) je pak řešením pro případy, kdy bylo zabráněno rozvoji OHSS podáním agonisty gonadoliberinu. Přenos embrya je prováděn v následujícím cyklu formou kryoembryotransferu, kdy jsou již podmínky v endometriu optimální.

## 2.5 Dostupné parametry pro měření ovariální rezervy

### 2.5.1 Folikulostimulační hormon (FSH)

Bazální hladina hypofyzárního FSH (Scott, 1989; Scott Jr., 1995), odběr 3. den cyklu, byla prvním biochemickým parametrem zavedeným do klinické praxe. Molekula FSH je glykoprotein, složený ze dvou podjednotek spojených navzájem nekovalentními vazbami a je produkován basofilními buňkami v předním laloku hypofýzy. Podjednotka  $\alpha$  je shodná i pro LH, hCG a TSH a je funkčně neúčinná. Je složená z řetězce 92 aminokyselin, který je prostorově formován pomocí pěti disulfidických můstků mezi 10 molekulami cysteinu. Funkční  $\beta$  podjednotka je pro každý z těchto hormonů specifická. Podjednotka  $\beta$  u FSH je složena ze 111 aminokyselin, řetězec je opět prostorově formován šesti disulfidickými můstky. V průběhu tvorby obou podjednotek dochází k jejich glykosylaci v endoplasmatickém retikulu –  $\alpha$  podjednotka obsahuje dva N vázané oligosacharidy (volná podjednotka produkovaná placentou obsahuje i jeden O vázaný oligosacharidový zbytek),  $\beta$  podjednotka obsahuje také dva N vázané oligosacharidové zbytky (Ulloa-Aguirre, 1998). Přítomnost sacharidových řetězců je důležitá pro funkční vlastnosti molekuly a také pro její biologický poločas, který je v případě FSH 3 hodiny.

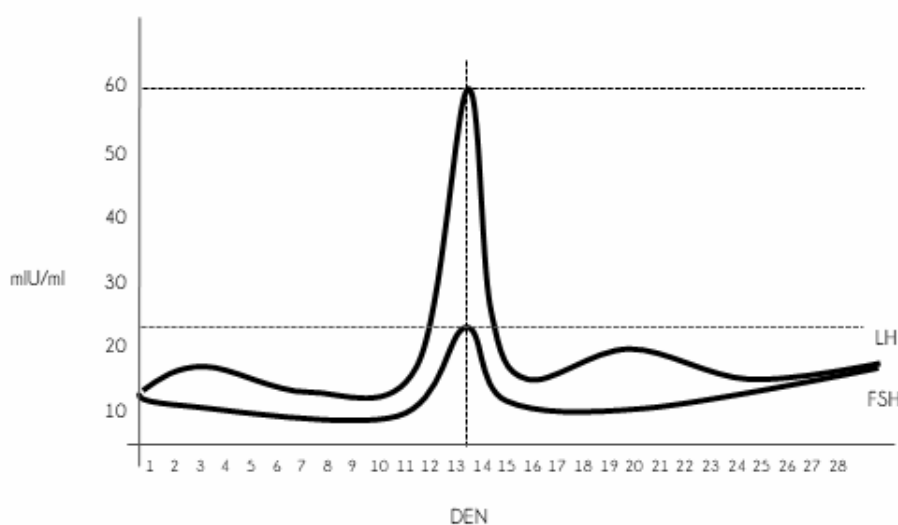


Obrázek 2: Molekula FSH navázaná na receptor (Fan, 2005)



Řízení sekrece FSH podléhá zejména hypothalamu, který vylučuje v pulzech gonadotropine-releasing hormon (GnRH) s aktivačním účinkem na syntézu FSH. Vaječníky produkovaný inhibin a folistatin mají na sekreci FSH tlumivý efekt, aktivin syntézu FSH podporuje.

Funkce FSH je dvojí – za prvé se podílí na recruitmentu a selekci folikulů a následném růstu dominantního folikulu, za druhé je zodpovědný za steroidní syntézu ve folikulu – konkrétně pod vlivem FSH dochází k syntéze estradiolu v granulózových buňkách folikulu (Henzl, 2002).



**Obrázek 3: Průběh FSH v menstruačním cyklu, (Cibula 2002).**

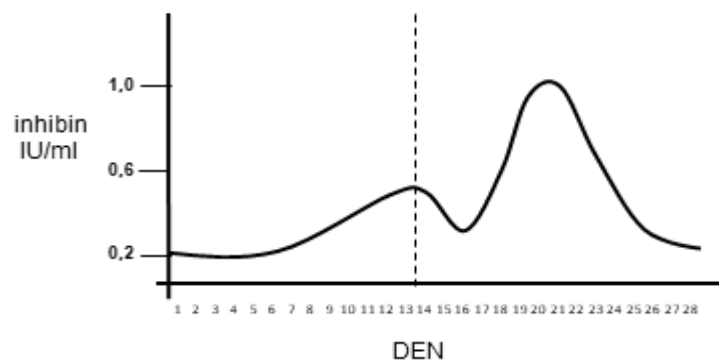
*Křivka FSH je doplněna křivkou LH se zřetelným předovulačním peakem.*

Měření FSH vyžaduje standardní podmínky třetího dne cyklu, mimo tento den je fyziologické kolísání hladin FSH dosti strmé a individuální. Původní studie prokazovaly dobrou prognózu na IVF cyklus u žen, které měly basální hladinu FSH zvýšenou nad 15 mIU/ml, naopak velmi špatnou u žen, které měly hladiny FSH vyšší než 25 mIU/ml a poměr FSH:LH 3:1 (Scott, 1989). Ukázalo se však, že tato hodnota po 15 mIU/ml je splněna u drtivé většiny patientek ve fertilním věku a praktické dopady tohoto testu jsou velmi omezené. Dokonce i u patientek nad 40 let jsou tyto parametry obvykle v normě a k jejich posunu mimo normál dochází až u zcela selhávajících vaječnicků. Hodí se tak spíše ke sledování hormonální

aktivity vaječnicků, případně k potvrzení menopauzy, nikoliv ke stanovení ovariální rezervy (Broekmans, 2006).

## 2.5.2 Inhibin

Dalším nadějným parametrem byl ovariální inhibin (Balasch, 1996; Seifer, 1997). Jedná se taktéž o glykoproteinový dimer  $\alpha$  a  $\beta$  podjednotky, spojený disulfidickými můstky, který je produkován granulózovými buňkami proliferujícího folikulu a žlutého tělíska. Podjednotka  $\beta$  má dva subtypy A a B, podle toho, která podjednotka je přítomna, je rozlišován inhibin A a inhibin B (Chada, 2003). Saifer 1997 dává do souvislosti bazální hladinu inhibinu B a nízkou odpověď vaječnicků na stimulaci a horší prognózu pro graviditu v IVF cyklu, pokud byla bazální hladina inhibinu B  $\leq 45$  pg/ml (Seifer, 1997). Podobně jako FSH se také ukázal jako málo užitečný při stanovení ovariální reaktivity a rezervy (Broekmans, 2006).



**Obrázek 4: Křivka hladin Inhibinu v průběhu menstruačního cyklu (Cibula, 2002)**

Od přelomu tisíciletí jsou velké naděje vkládány do vyšetření biochemického parametru anti – Müllerian hormonu (AMH) (Lee, 1996) a ultrazvukového parametru antral follicle count (AFC) (Tomás, 1997). Na rozdíl od výše zmíněných parametrů byla u AMH a AFC prokázána mnohem lepší korelace mezi jejich hodnotami a počtem získaných oocytů. Jsou proto zařazovány do standardních vyšetřovacích schémat před zahájením IVF cyklu. Vznikají algoritmy zahrnující věk, hmotnost pacientky, AMH a AFC, jejichž cílem je individualizovat dávku a pomoci klinikům eliminovat poddávkování a přestimulování.

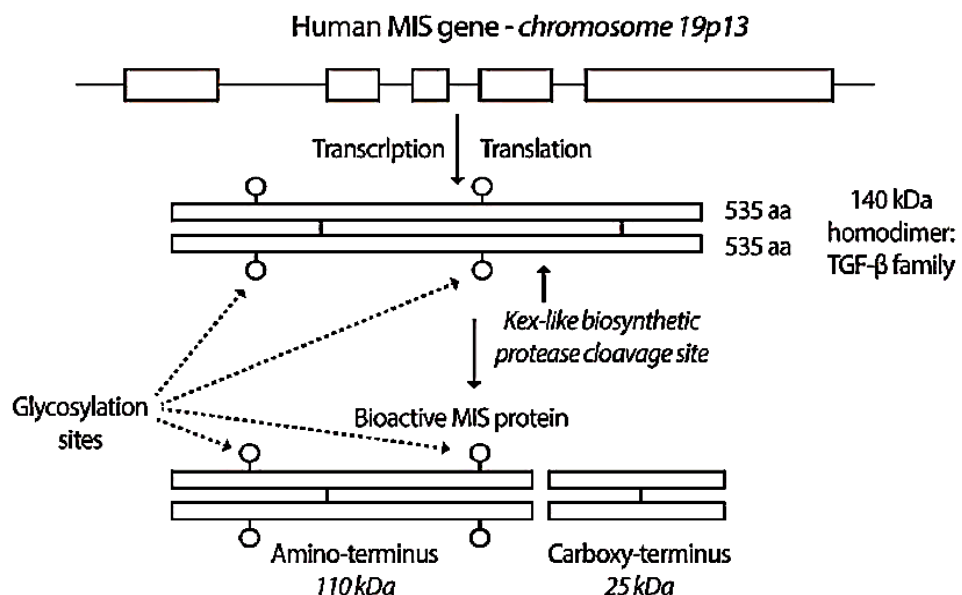
Rozsáhlá metaanalýza dostupných parametrů určených ke stanovení ovariální rezervy a k predikci reakce na stimulaci FSH vedená Broekmansem v roce 2006 (Broekmans, 2006) ukázala, že reálně užitečné v klinické praxi jsou pouze parametry anti-Müllerian hormon a antral follicle count. Korelace mezi hodnotami těchto parametrů a ovariální odpovědí na stimulaci byla opakovaně prokázána v mnoha studiích a v současnosti se maximum pozornosti výzkumných týmů věnuje vytváření algoritmů v kombinaci s věkem a hmotností pacientek k optimalizaci dávky FSH ve stimulaci.

### 2.5.3 Anti-Müllerian hormon (AMH)

#### Struktura AMH

Objev toho dimerického glykoproteinu ze skupiny růstových faktorů  $\beta$  (TGF  $\beta$ ) pochází z roku 1947 (Jost, 1947), nejdříve byla jeho existence popsána u samců králíka, později byla objevena jeho fyziologická funkce při diferenciaci mužského pohlaví i u člověka.

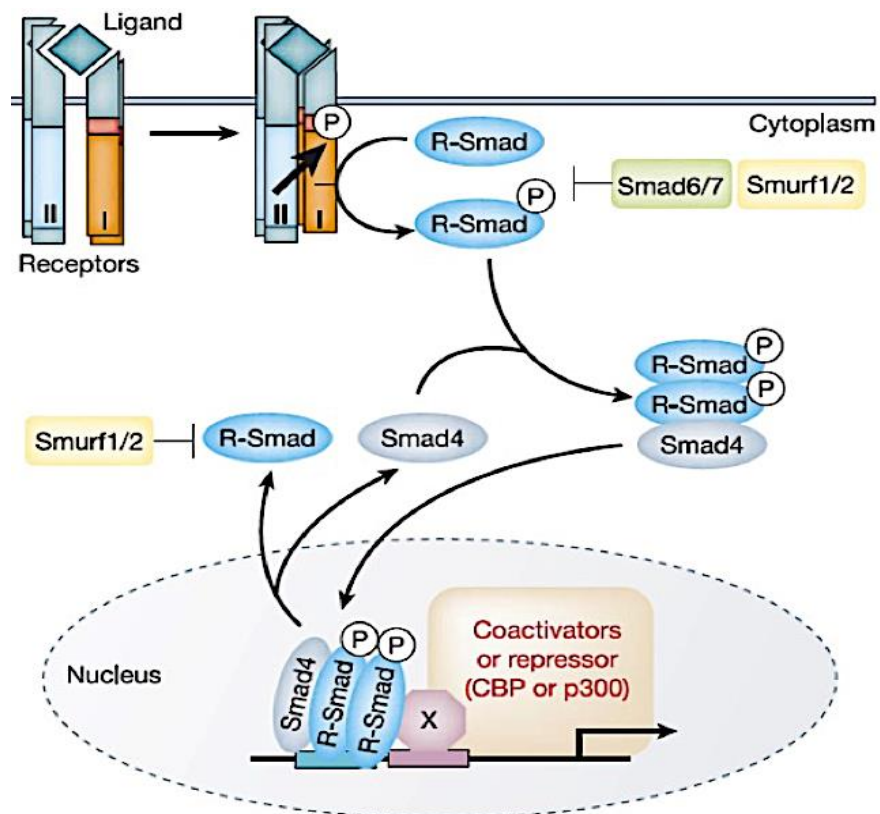
Jedná se o homodimer – skládá se ze dvou identických glykoproteinových podjednotek spojených disulfidickými můstky (molekulární hmotnost 140 kDa). Každá podjednotka (70 kDa) se skládá z 25 aminokyselin tvořících signální peptid a dále z řetězce 535 aminokyselin, který je glykosylován na dvou místech (Kim, 2014).



Obrázek 5: Syntéza a struktura AMH (Kim, 2014)

## AMH receptor (AMHR2)

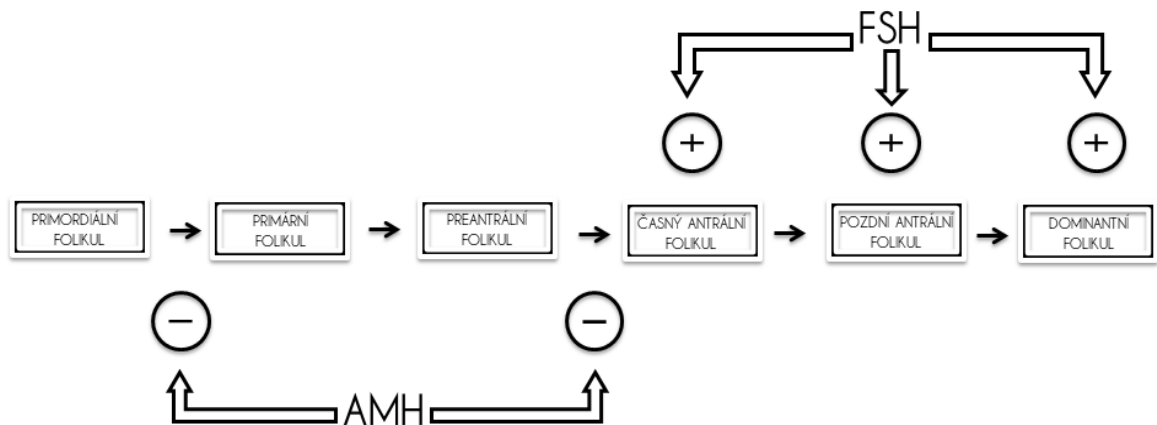
Receptor pro AMH se skládá ze dvou částí 1 a 2, přičemž část 2 je ligandově specifická pro AMH, část 1 slouží pouze pro přenos signálu do buňky a je aktivovaná ve fázi, kdy je na část 2 navázána molekula AMH. Aktivovaná část 1 poté nitrobuňčně fosforyluje tzv. Smad proteiny, které pak interagují v buněčném jádře s transkripčními faktory a regulačními geny. Podobou strukturu a princip přenosu signálu mají i ostatní receptory pro skupinu růstových faktorů  $\beta$ . AMH a jeho receptor jsou specifické, ostatní receptory v TGF  $\beta$  skupině jsou nespecifické a vážou se na ně různé další substance z této skupiny, např. aktivin, TGF  $\beta$ , BMP (Derynck, 2003). Přítomnost tohoto receptoru byla prokázána v největší míře v ovariích, dále v nadledvinách, varlatech a v mnohem menší míře ve slinivce a slezině. Výskyt tohoto receptoru v ostatních orgánech je zanedbatelný (Uhlen, 2015).



Obrázek 6: Funkce AMH receptoru – receptoru pro TGF  $\beta$  (Derynck, 2003)

## Fyziologická funkce AMH

Produkce AMH v Sertoliho buňkách varlete (u mužského pohlaví začíná už v 5. týdnu embryonálního vývoje) ve fetálním vývoji brání diferenciaci Müllerových vývodů (základ vejcovodů, dělohy a horní části pochvy) u mužského pohlaví. Syntéza v Sertoliho buňkách je kontrolována stimulačním vlivem FSH a inhibičním vlivem testosteronu, testosteron je pak stimulačním impulzem pro rozvoj Wolffových vývodů, z nichž vznikají struktury nadvarlete, chámovod, semenné vajíčky a ductus ejaculatorius (Hampl, 2011). Produkce AMH v ženském organismu byla prokázána začátkem 90. let 20. století (Hudson, 1990) a objevuje se od 36. týdne fetálního vývoje. Zdrojem jsou granulózové buňky preantrálních a časných antrálních folikulů. Pozdní antrální folikuly a dominantní folikuly (FSH senzitivní stadia) produkují AMH v mnohem menší míře (Durlinger, 2002). Enzymatický aparát pro jeho syntézu byl prokázán v kumulárních buňkách, zatímco granulózové buňky v těchto stadiích již AMH neprodukuje (Salmon, 2004; Grøndahl, 2011). V jiných stadiích folikulů (primordiální folikuly, primární folikuly, atretické folikuly) produkce AMH nebyla prokázána.



Obrázek 7: Regulační funkce AMH v ovariu

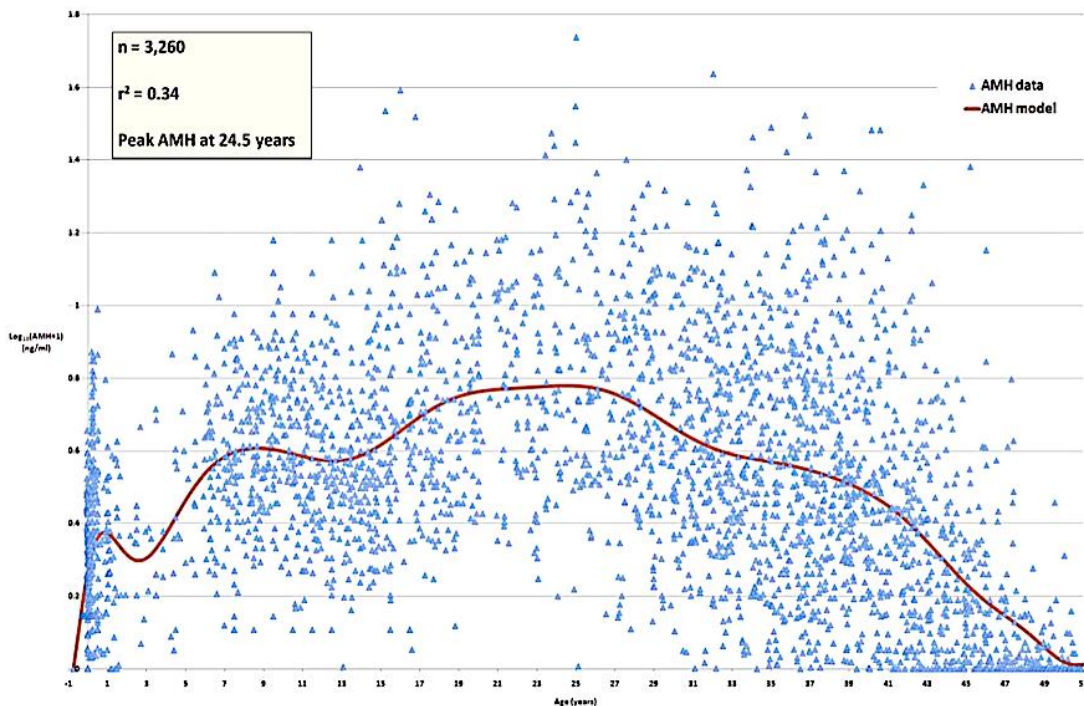
Předpokládá se, že fyziologická funkce AMH u ženy spočívá v regulaci zásoby preantrálních folikulů ve vaječníku. AMH inhibuje vývoj ze stadia primordiálního folikulu do stadia primárního folikulu, naopak u preantrálních folikulů AMH snižuje senzitivitu na FSH a blokuje jejich přeměnu do FSH senzitivních folikulů antrálních (Durlinger, 1999). Maximální produkce AMH a nízká produkce E2 byla prokázána v antrálních folikulech do velikosti

8 mm, což souvisí s inhibičním účinkem AMH na aromatázu granulózových buněk (Grossman, 2008), ve folikulech nad 8 mm s klesající produkcí AMH tento inhibiční efekt klesá a produkce estradiolu naopak kulminuje (Jeppesen, 2013).

## Faktory ovlivňující hladinu AMH

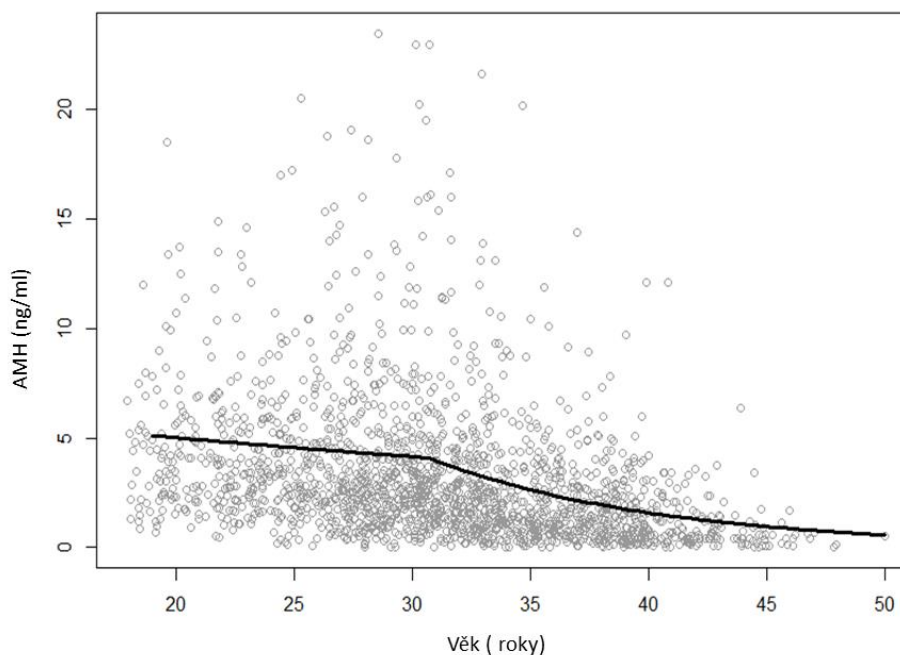
### Vývoj hladin AMH v závislosti na věku ženy

Průběh produkce AMH v životě ženy znázorňuje křivka. V novorozeneckém věku je produkován ve zvýšené míře, pak jeho hladina velmi umírněně roste až do 9. roku života, následuje plateau křivky až do 13 – 14 let, kdy se probouzející se ovariální aktivitou hladiny výrazně zvedají a kulminují kolem 22. – 25. roku života ženy (Kelsey, 2011). Hladina AMH pak začne velmi strmě klesat mezi 35. – 40. rokem a vymizí zcela s koncem ovariální činnosti.



Obrázek 8: Křivka vývoje hladin AMH od koncepce do menopauzy (Kelsey, 2011).

*V tomto pozorování autoři našli peak hladin AMH ve věku 24,5*



**Obrázek 9: Křivka vývoje hladin AMH v závislosti na věku**

*Vlastní pozorování autora, ke zlomu dochází ve 31 letech (nepub. Rumpíková; Štelcl, 2018)*

#### *Další faktory ovlivňující hladiny AMH*

Byla nalezena variabilita hladin AMH v závislosti na rase. U afroamerické a hispánské rasy byly prokázány průměrné nižší hladiny AMH ve srovnání s kavkazskou rasou ve stejných věkových kategoriích (Seifer, 2009). Naopak vyšší hladiny byly pozorovány u jihoasijských žen (Bhide, 2015).

Studie zabývající se kouřením a hladinami AMH prokázaly obecně u aktivních kuřáček o 40 % nižší hladiny AMH než u nekuřáček (nezávisle na počtu vykouřených cigaret), přičemž u kuřáček kouřících více než 15 cigaret denně byly nalezeny hladiny až o 60 % nižší ve srovnání s nekuřáčkami (Plante, 2010).

Hladiny AMH se mohou snižovat u uživatelék hormonální antikoncepce o 29 % až o 50 % (Bentzen, 2012), přičemž k poklesu hladin AMH došlo jak u uživatelék orální kontracepce, tak u náplastové formy i vaginálních kroužků (Kallio, 2013). Při užívání hormonální

antikoncepce dochází k poklesu počtu všech velikostních kategorií folikulů. Po dlouhodobém užívání dochází k většímu útlumu produkce AMH, naopak krátkodobé užívání (např. 14 – 21 dní v rámci plánování stimulace) nemá na hladiny AMH žádný dopad. Po vysazení hormonální antikoncepce dochází k úpravě hladin AMH do původních mezí nejdříve za tři měsíce.

V průběhu gravidity dochází k pozvolnému poklesu hladin AMH (Nelson, 2010) – především ve II. a III. trimestru. Autor studie dává pokles hladin AMH v graviditě do souvislosti se snížením recruitmentu ovariálních folikulů v graviditě, čímž je přirozeně bráněno vzniku dalších asynchronních gravidit. Záhy po porodu se recruitment folikulů obnovuje, což je doprovázeno pozvolným vzestupem hladin AMH (Köninger, 2013).

#### *Variabilita AMH v průběhu menstruačního cyklu*

Teorie o tom, že AMH není produkováno v dominantních folikulech, případně ve žlutých těliscích, je podpořena tím, že AMH je v průběhu menstruačního cyklu velmi stabilní. Na rozdíl od FSH není nutné odběr AMH směřovat na 3. den cyklu, dobrou vyhovovací hodnotu má v průběhu celého cyklu (La Marca, 2006). V některých studiích mají hladiny AMH velmi stabilní hodnoty – Van Disseldorp 2010 (Van Disseldorp, 2010), kde variabilita hladin AMH dosahovala 13 %, jiné naopak stabilitu AMH v cyklu zpochybňují – Hadlow 2013 (Hadlow, 2013). La Marca (La Marca, 2013) nicméně ve svém review prezentuje fluktuace AMH v cyklu jako nahodilé a malé a považuje je za nevýznamné pro klinickou praxi.

#### **Metody měření AMH**

Ke stanovení hladiny AMH v séru se v současné době používají dvě plně automatizované metody: Access AMH a novější Elecsys AMH Plus.

Access AMH funguje na principu paramagnetické částicové chemiluminiscenční imunoanalýzy. K vazbě na AMH jsou používány myší monoklonální anti-AMH protilátky. Paramagnetické částice pokryté těmito protilátkami se vážou na molekuly AMH v séru. Pomocí magnetického pole jsou pak tyto částice selektovány a po promytí s chemiluminiscenční substancí je vzorek analyzován luminometrem. Intenzita světla produkovaného vzorkem je přímo úměrná koncentraci AMH ve vzorku (Demirdjian, 2016).



Princip Elecsys AMH je podobný jako systém předchozí, pracuje také na principu imunoanalýzy a chemiluminiscence. Protilátky proti AMH jsou však dvojího typu (část protilátek má navázaný biotin a část rhutenium) a dochází k tzv. sendvičové vazbě, při které je molekula AMH mezi dvěma protilátkami (Deeks, 2015). K hodnocení intenzity světelného signálu je používána metoda elektrochemiluminiscence. Díky této metodě je dosaženo vyšší výtěžnosti a tím přesnosti vyšetření při použití této metody. Naměřené hladiny vykazují cca o 10 % vyšší hodnoty ve srovnání a metodou Access AMH (Janatová, 2017).

V autorově studii byla použita metoda Access AMH. Jedním z důvodů byla aktuálně nižší cena ve srovnání s metodou Elecsys. Druhým zásadnějším důvodem bylo to, že v laboratoři byla metoda Elecsys teprve v testovací fázi a laboratoř nemohla garantovat dostatečně validní a stabilní výsledky.

### **Rozmezí hodnot AMH**

Současné znalosti sice neumožňují zatím spolehlivě definovat individuální stimulační dávku FSH podle hodnot AMH (ani v kombinaci s ostatními parametry), nicméně existují téměř jasné limitní hladiny AMH v séru, pomocí kterých můžeme dosti spolehlivě předpovědět buď slabou reakci vaječnicků na běžnou stimulaci (POR), nebo nadměrnou reakci (OHSS).

ESHRE konsezus (Bologna) definuje jako hraniční hladinu pro POR hodnotu 0,5 – 1,1 ng/ml a nižší (Ferraretti, 2011). Závěry vícero studií se shodují na téměř stejných limitech (Ficicioglu, 2014). Na druhou stranu je všeobecně uznávanou hranicí pro riziko OHSS 3,9 ng/ml, nicméně OHSS se může poměrně často vyskytnout i pod touto hranicí (Salmassi, 2015).

## 2.5.4 Antral follicle count (AFC)

Antral follicle count (AFC) je počet antrálních folikulů velikosti 2 – 10 mm, které jsou počítány při ultrazvukovém vyšetření, ideální je bazální AFC měřené 3. den cyklu nebo alespoň v prvních sedmi dnech cyklu.

Tomás et al. (Tomás, 1997) poprvé referují o AFC jako o možnosti odhadnout slabou nebo nadměrnou reakci vaječníků. Za antrální folikuly byly považovány folikuly velikosti 2 – 10 mm. Ming-Yang Chang (Chang, 1998) dospěl k podobným závěrům a pozoroval korelaci mezi AFC, počtem dominantních folikulů při stimulaci a počtem získaných oocytů. U pacientek, které měly tři a méně antrálních folikulů, prokázal signifikantně vyšší šance na zrušení IVF cyklu. Banci et al (Banci, 2002) popsali signifikantně vyšší výpovědní hodnotu AFC ve srovnání s bazálními hodnotami FSH, inhibinu B a estradiolu. Fratarelli (Fratarelli, 2003) definoval hodnotu čtyři a méně antrálních folikulů jako limitní pro signifikantně zvýšené riziko zrušení cyklu a uvedli ho do souvislosti se sníženým pregnancy rate. Od té doby je tento limit všeobecně uznáván pro předpověď nízké odezvy vaječníků na stimulaci a pro předpověď nízké ovariální rezervy.

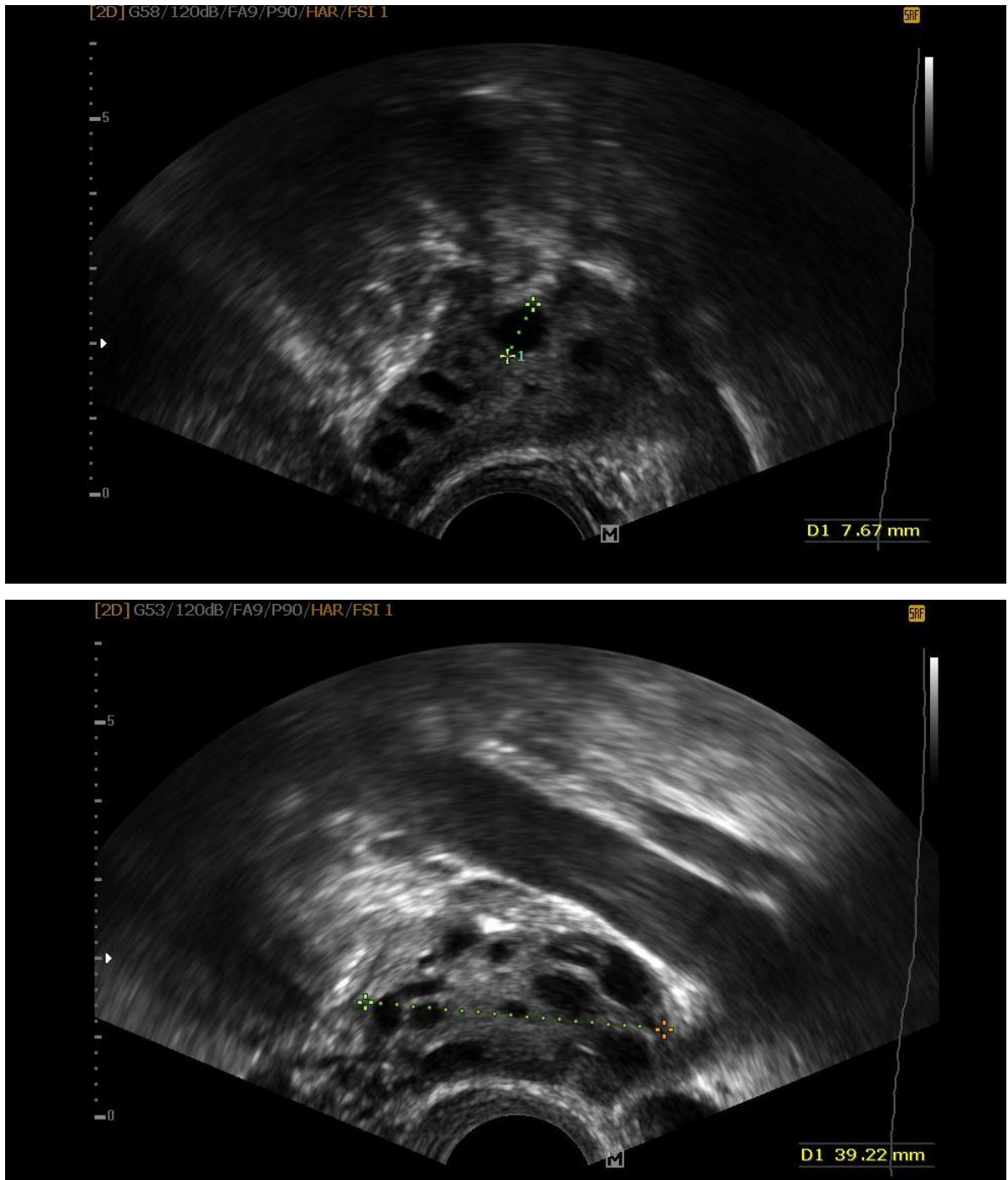
**Tab. 2: Normální rozmezí AMH a AFC**

	<b>POR</b>	<b>Normal response</b>	<b>OHSS</b>
AMH (ng/ml)	< 0,5-1,1	1,1-3,9	> 3,9
AFC (počet)	< 5	5-24	> 24

Za limit pro OHSS je považován počet 8 antrálních folikulů (Ocal, 2011), nicméně tento limit je dosti bezpečný a z praxe ho lze považovat za limit, pod kterým se OHSS nevyskytne. Naopak dle ESHRE kritéria PCOS (Revised 2003 consensus, Rotterdam ESHRE/ASRM- Sponsored PCOS Consensus Workshop Group, 2003) je limit 24 antrálních folikulů na obou stranách jasnou zárukou OHSS.

Fanchin et al. (Fanchin, 2003) potvrdil korelaci mezi AFC a AMH, nicméně fakt, že menší antrální folikuly produkují více AMH než větší, vede ke značné individuální variabilitě, protože při standardním měření AFC nejsou folikuly počítány ve velikostních kategoriích,

ale jde o prostý součet všech folikulů s různou velikostí 2 – 10 mm. Ultrazvukem jsme schopni také detekovat folikuly atretické, které AMH neprodukují. Obecně s rostoucím počtem antrálních folikulů roste individuálně i AMH, nicméně nelze podle hodnoty AFC hodnotu AMH předpovědět.



Obrázek 10: Antral follicle count

## **Faktory ovlivňující AFC**

Vzhledem k tomu, že hodnoty AFC a hladiny AMH spolu souvisejí, je jasné, že i AFC bude vykazovat pokles s věkem. Křivka vývoje hodnot AFC má od 20 let plochý průběh, k zlomu dochází kolem 33. roku života ženy a pak křivka rychle klesá. Tento průběh je ve všech percentilech hodnot AFC stejný (Loy, 2017). Autoři další studie porovnávali vývoj křivek AFC i AMH, věková křivka AFC vykazuje již výše diskutovaný tvar, hodnoty FSH negativně korelují (rostou) s hladinami AMH a AFC. Strmý vzestup křivky FSH je pozorován až po 40. roce, a je tak až pozdním ukazatelem selhávání vaječníků, jak bylo zmíněno v úvodní části. Hodnoty AFC klesají později než hladiny AMH, z čehož autoři usuzují, že AMH je citlivějším ukazatelem funkce vaječniku než AFC (Wiweko, 2013).

## **2.6 Ovariální rezerva**

Pojem ovariální rezerva představuje velmi přibližně zásobu oocytů v ovariích. Dostupné parametry hodnocení ovariální rezervy nám však umožňují hodnotit jen malou část folikulů – buď viditelných při ultrazukovém vyšetření, nebo produkujících AMH. Většina folikulárních stadií je v současné době nedetekovatelná. Nicméně lze aproximovat, že hodnotitelná část folikulů svým počtem odpovídá počtu nedetekovatelných stadií folikulů, zejména folikulů primordiálních.

## 3 Cíl práce

Cílem práce je nalezení souvislosti mezi AMH, AFC a počtem získaných oocytů při stimulaci rec. FSH u žen v optimálním reprodukčním věku a zvážení jejich přínosu při stanovení ovariální rezervy.

Dávkování FSH při ovariální stimulaci v běžné praxi je stále otázkou spíše osobní zkušenosti a odhadu lékaře, který stimulační dávku stanovuje. Mnohdy nedokážeme odpovědět na otázku pacientky, jak byla zvolena stimulační dávka v jejím cyklu, přičemž důvody pro konkrétní dávku (po zohlednění parametrů jako je věk a BMI) jsou především subjektivní a pocitové. Nejvíce rizikové z hlediska nepřesnosti stimulační dávky jsou zejména první stimulační dávky, při kterých je často stimulační dávka pouhým „náštrelem“, a teprve při nutnosti následných stimulačních dávek je dávka přesněji upravena na základě předchozí individuální reakce. Doposud chybí vhodný algoritmus, pomocí kterého bychom dokázali exaktněji stanovit stimulační dávku léku.

Proto je práce zaměřena na hledání souvislosti mezi parametry AMH, AFC a počtem získaných oocytů. Nalezení této souvislosti by mohlo pomoci předpovědět reakci ovarií. Studie byla zaměřena na ženy, které nejsou léčeny s diagnózou neplodnosti, ale jejich stimulace je prováděna za účelem darování oocytů. Autor chtěl tak eliminovat potenciální negativní vliv různých diagnóz neplodnosti.

## 4 Materiál a metody

Jedná se o prospektivní studii, při níž bylo probandkám nejprve odebráno AMH, vyšetřeno AFC a následně byly stimulovány rec. FSH. Byla sledována závislost počtu celkově získaných oocytů a MII oocytů na hodnotách AMH a AFC. Experimentální skupina 61 žen byla tvořena dárkyněmi oocytů v rozmezí věku 20 – 33 let.

### 4.1 Výběr probandek

Dárcovství oocytů je upraveno zákonem č. 136/2017 Sb. a vyhláškou č. 167/2017 sb., dárkyní se může stát žena ve věku od 18 do 35 let. Darování předchází podrobná anamnéza, přičemž ženy s anamnézou neplodnosti nebo opakovaného potrácení jsou vyloučeny z darování. Stejně tak jsou vyloučeny ženy, které trpí chronickou chorobou s možnou dědičností. Po stanovení karyotypu a vyšetření nejfrekventovanějších recesivních mutací – zejména vyšetření 36 mutačních predispozic pro cystickou fibrózu (k zařazení do dárcovského programu je nutný zcela negativní výsledek těchto testů) – podstupuje adeptka na darování evaluaci klinickým genetikem k posouzení výsledků genetických testů a genetické zátěže v rodině. Dalším předpokladem k darování jsou negativní vyšetření STD (hepatitida B, C, syfilis, HIV), u žen, které cestovaly do rizikových oblastí (např. Tichomoří), je nutné ještě provést vyšetření na přítomnost viru HTLV I a II. Samotnému zařazení probandky do studie předcházelo fyzikální vyšetření včetně stanovení body mass indexu (BMI) a ultrazvukové vyšetření k vyloučení klinicky němé gynekologické patologie. Probandky splňující kritéria PCOS (kritéria Rotterdam) byly ze studie vyřazeny. Všechny dárkyně podepsaly informovaný souhlas s darováním zárodečných buněk. Ty dárkyně, které byly zařazeny do studie, podepsaly i informovaný souhlas s účastí ve studii.

### 4.2 Stanovení AMH

Odběr žilní krve byl prováděn 2. nebo 3. den cyklu. Vzorky séra byly před transportem do laboratoře uchovávány ve stojácích v lednici a transportovány do laboratoře nejpozději do 24 hodin po odběru. Hladina AMH v séru byla stanovována metodou Access AMH

(firmy Beckman Coulter) fungující na principu částicové chemiluminiscenční imunoanalýzy. Výsledek AMH je ve studii měřen v ng/ml.

### 4.3 Měření AFC

Probíhalo ve stejný den jako odběr krve k vyšetření AMH, tedy 2.– 3. den cyklu. Vaginální sonografické vyšetření bylo prováděno zkušeným IVF lékařem na ultrazvukovém přístroji Medison Sonoace X6, počítány byly ultrazvukem viditelné antrální folikuly do velikosti 2 – 10 mm.

### 4.4 Stimulace rekombinantním FSH (rec. FSH)

Stimulace pomocí rekombinantního FSH (Gonal F, firma Merck) byla vedena v režimu antagonistického protokolu. Antagonista (Orgalutran 0,25 ml, firma MSD) byl standardně přidán od 7. dne stimulace. K absolutnímu vyloučení hyperstimulačního syndromu bylo k indukci ovulace místo hCG použito 0,2 mg agonisty GnRH (Decapeptyl 0.1, firma Ferring). Stimulační dávka nebyla v průběhu stimulačního cyklu měněna a odběr vajíček byl standardně prováděn 13. den cyklu. Odběr byl realizován 36 hodin po aplikaci agonisty.

Stanovení dávky rekombinantního FSH probíhalo podle standardního klinického schématu: 150 IU pro BMI 22 – 25, 175 IU pro BMI 26 – 28, 200 IU pro BMI 28 – 30, 250 – 262 IU pro BMI vyšší než 30.

### 4.5 Odběr oocytů

Odběr oocytů byl prováděn v celkové anestézii za aseptických kautel. K odběru byly používány jehly firmy Cook (Single Lumen Ovum Aspiration Needle, firma Cook Medical, Australia). K vytváření podtlaku byl používán Aspirator 3 (firma Labotect, Germany).

### 4.6 Charakteristiky souboru

Věk probandek byl 20 – 33 let (střední hodnota věku 23,92 let, směrodatná odchylka SD = 3,72 let). BMI (střední hodnota 23,3, směrodatná odchylka = 3,72), dávka rec. FSH rozpětí dávky 120 – 260 IU (střední hodnota 184,75 IU, směrodatná odchylka = 36,36 IU).

**Tab. 3: Základní charakteristiky souboru (BMI, věk, použitá dávka rec. FSH)**

Proměnná	Střední hodnota	Směrodatná odchylka (SD)	Dolní kvartil	Horní kvartil
BMI	23,3	3,72	20,6	25,0
Věk [roky]	23,9	3,72	21,0	27,0
Rec FSH [IU]	184,75	36,36	150,0	225,0

## 4.7 Statistická analýza

Závislost mezi studovanými faktory AMH, FSH, BMI, celkový počet získaných oocytů, počet získaných MII oocytů, AFC byla zkoumána pomocí korelační analýzy. Vliv prediktorů na celkový počet získaných oocytů a počet MII oocytů byl analyzován užitím lineárních smíšených modelů. Každý model se skládal ze základních fixních proměnných a jednoho náhodného efektu. Spojité fixní proměnné byly hladina AMH hormonu, AFC a adjustující fixní efekty, věk pacienta a BMI. V každém modelu byla zahrnuta proměnná rec. FSH jako náhodný efekt. Statistická významnost fixních proměnných byla ověřena F testem s korekcí stupňů volnosti. Hladina významnosti byla stanovena na 0,05. Náhodný efekt FSH byl uvažován v obou modelech. REML (restricted maximum likelihood) byl použit pro odhad parametrů ve smíšených modelech. SAS Version 9.3 (SAS Institute Inc. 100 SAS Campus Drive Cary, NC 27513-2414, USA) byl využit pro analyzování dat.



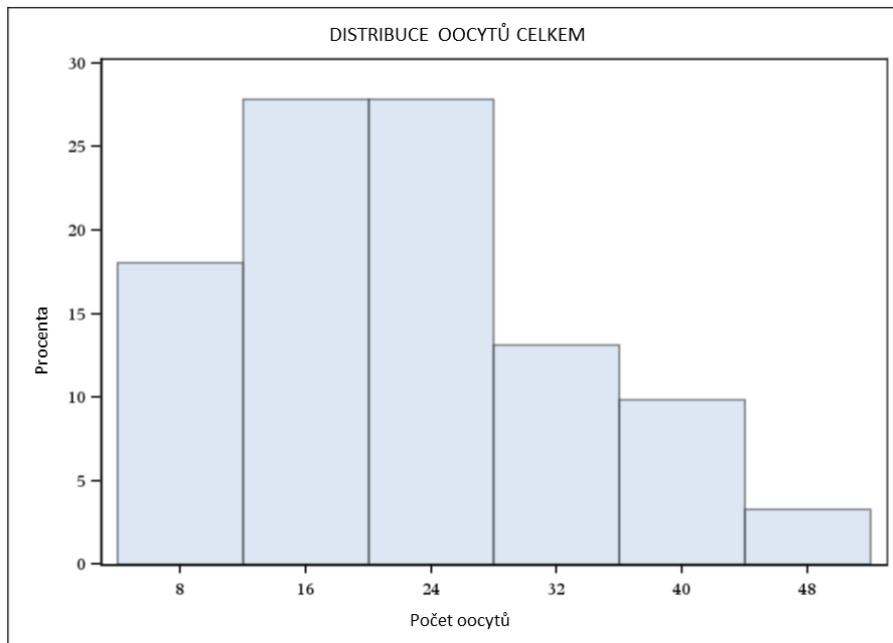
## 5 Výsledky

Naměřené hodnoty sérové hladiny AMH, počet antrálních folikulů (AFC) a počet oocytů (celkový počet získaných oocytů a počet MII oocytů) jsou patrné v souhrnné tabulce. Sérová hladina AMH v séru (střední hodnota = 6,01 ng/ml, směrodatná odchylka = 3,52 ng/ml), AFC (střední hodnota = 10,53, směrodatná odchylka = 1,91).

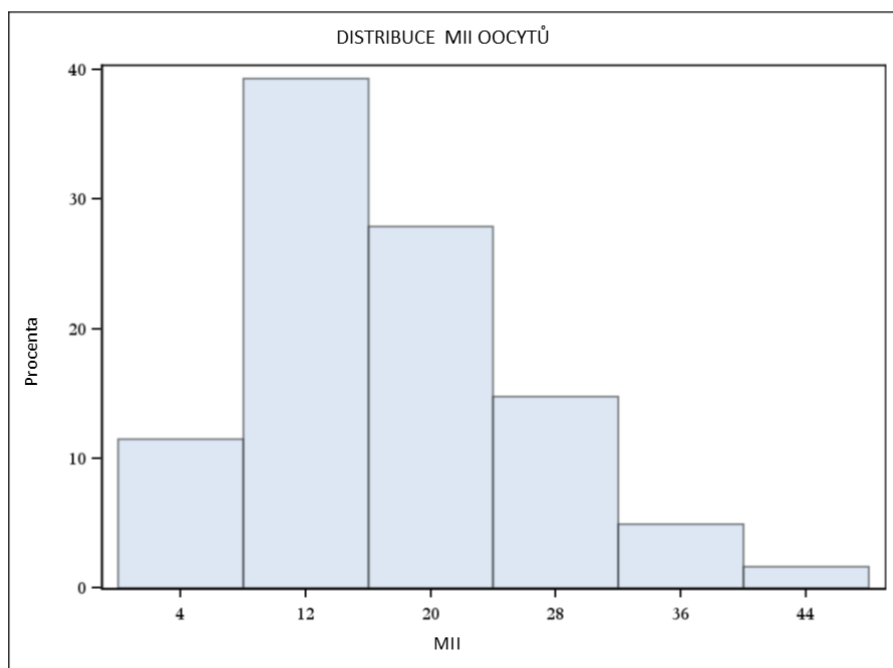
**Tab. 4: Souhrnné výsledky**

Proměnná	Střední hodnota	Směrodatná odchylka	Dolní kvartil	Horní kvartil
MIII oocyty [počet]	16,8	8,38	11	22
Celkem oocytů [počet]	21,6	10,65	15	28
AMH [ng/ml]	6,01	3,52	3,5	7,9
AFC [počet]	10,53	1,91	10	11

*(celkový počet získaných oocytů, počet MII oocytů, sérová hladina AMH, AFC)*



**Obrázek 11: Distribuce počtu celkově získaných oocytů**



**Obrázek 12: Distribuce počtu MII oocytů**

## 5.1 Výsledky statistické analýzy

### 5.1.1 Homogenita souboru

Do souboru byly zařazeny probandky různého věku a BMI. Teoretický předpoklad byl, že věk by neměl v této věkové kategorii mít zásadní vliv na počet získaných oocytů, vliv BMI (Howles, 2006) byl kompenzován zvyšující se stimulační dávkou rec. FSH, odstupňovanou dle schématu zmíněného výše. Přesto bylo potřeba provést analýzu, zda některý z parametrů neovlivnil počet získaných oocytů a tím nedošlo ke zkreslení hledané korelace mezi AMH, AFC a počtem oocytů (celkovým počtem oocytů i počtem MII oocytů).

Výsledky lineárního smíšeného modelu pro BMI a věk jsou v tabulce. Je patrné, že vazba mezi věkem a celkovým počtem získaných oocytů i počtem MII není statisticky významná, věkové rozdíly mezi dárkyněmi neměly vliv na počet získaných oocytů. Stejně statisticky nevýznamný vliv má BMI na celkový počet získaných oocytů i počet oocytů MII. Vliv nestejných hodnot BMI byl tedy dobře vykompenzován zvyšující se stimulační dávkou rec. FSH (viz odstavec o stimulaci rec. FSH, Materiál a metody).

**Tab. 5: Souhrn lineárního smíšeného modelu pro celkový počet získaných oocytů**

Efekt	Odhad	Směrodatná chyba	DF	F	P hodnota	Dolní CI	Horní CI
BMI oo celk.	0,42	0,36	56	1,32	0,256	-0,31	1,15
AGE [roky] oo celk.	-0,12	0,41	56	0,09	0,767	-0,95	0,7
BMI oo MII	0,37	0,28	56	1,74	0,192	-0,19	0,93
VĚK [roky] oo MII	-0,23	0,33	56	0,49	0,487	-0,9	0,44

*Celkový počet získaných oocytů (oo celk.), počet MII oocytů (oo MII), BMI a věk. DF označuje stupně volnosti F testu s „between-within“ korekcí. Poslední dva sloupce jsou hranice 95% intervalu spolehlivosti (dolní CI, horní CI), CI confidence interval.*

### 5.1.2 Závislost počtu získaných oocytů a MII oocytů na hladině AMH a hodnotě AFC

Po statistické analýze je patrné, že s rostoucím AMH se statisticky významně zvyšuje jak celkový počet získaných oocytů ( $P = 0,015$ ), tak i počet oocytů MII ( $P = 0,033$ ). S rostoucím AFC se statisticky významně zvyšuje počet oocytů MII ( $P = 0,018$ ), pro celkový počet oocytů bylo AFC statisticky nevýznamné ( $P = 0,127$ ).

**Tab. 6: Souhrn lineárního smíšeného modelu pro celkový počet získaných oocytů**

Efekt	Odhad	Směrodatná chyba	DF	F	P hodnota	Dolní CI	Horní CI
AMH [ng/ml] oo celk.	0,96	0,38	56	6,27	0,015	0,19	1,73
AFC [počet] oo celk.	1,1	0,71	56	2,41	0,127	-0,32	2,53
AMH [ng/ml] oo MII	0,65	0,3	56	4,77	0,033	0,05	1,24
AFC [počet] oo MII	1,34	0,55	56	5,93	0,018	0,24	2,45

*Celkový počet získaných oocytů (oo celk.), počet MII oocytů (oo MII), AMH a AFC. DF označuje stupně volnosti F testu s „between-within“ korekcí. Poslední dva sloupce jsou hranice 95% intervalu spolehlivosti (dolní CI, horní CI), CI confidence interval.*

Práce prokázala statisticky významný vliv hladiny AMH na celkový počet získaných oocytů a počet MII oocytů. Vliv AFC se ukázal statisticky významný pouze v souvislosti s počtem MII oocytů. Vliv AFC na celkový počet získaných oocytů se neprokázal.

## 6 Diskuse

V současné době je za dobrou stimulaci považován zisk 4–14 oocytů (La Marca, 2014; Ferraretti, 2011). Pokud je při stimulaci dosaženo minimálně tohoto počtu oocytů, je pravděpodobné, že budou k dispozici k přenosu do dělohy dvě až tři kvalitní embrya (bez ohledu na euploiditu). Je-li počet získaných oocytů nižší, může nastat situace, že nebude žádné kvalitní embryo vhodné k transferu (Ji, 2013).

Autor ve studii prokázal statisticky významnou závislost celkového počtu získaných oocytů na sérové hladině AMH. Počet MII oocytů statisticky významně souvisí jak s hladinou AMH, tak s hodnotou AFC.

Snižující se kvalita oocytů s věkem souvisí zejména s narůstajícím procentem geneticky abnormálních vajíček. Dochází jednak k narušení integrity DNA, přičemž s rostoucím věkem procento fragmentované DNA již přesahuje schopnosti reparačních mechanismů oocytu. Dalším faktorem je snižující se funkčnost cytoplasmických struktur jako je dělicí vřeténko a mitochondriální aparát. U žen starších 35 let se ovariální faktor stává s každým rokem významnější a vede jak k poklesu plodnosti, tak ke zvýšení potratovosti. Z hlediska IVF lze aproximovat, že s rostoucím věkem je potřeba k vývoji jedné kvalitní a euploidní blastocysty více oocytů (Kahraman, 2016). Naopak u mladší ženy je počet oocytů potřebný k vývoji euploidní blastocysty nižší. Snížení AMH a AFC u mladé ženy sice může predikovat nižší počet získaných oocytů, nicméně i relativně málo oocytů stačí k tomu, aby bylo k dispozici dobře vyvinuté a euploidní embryo k přenosu do dělohy a je vysoká šance na implantaci a pokračování gravidity.

Je evidentní, že vyšší AMH a AFC je spojeno s vyšší pravděpodobností zisku kvalitního embrya, nicméně to není zárukou, že embryo bude skutečně euploidní a životaschopné, zejména v kategorii žen nad 40 let.

Z výše uvedeného vyplývá, že oba parametry prokazatelně pomáhají při odhadu stimulační dávky FSH. Dosah jejich předpovědní efektivity se spíše omezuje na počty dominantních folikulů a následně získaných oocytů. Genetická kvalita oocytů a tím i počet euploidních embryí, která mají šanci na implantaci, případně pregnancy rate nemohou být těmito parametry spolehlivě hodnoceny. Hlavním faktorem pro predikci kvality oocytů

(zejména genetické kvality oocytů) je věk ženy. Přitom byl v této úvaze zcela vynechán vliv kvality spermií používaných k oplození oocytů. Je to další velmi významný faktor, který komplikuje souvislost mezi AMH, AFC a pregnancy rate.

Pozitivní korelaci mezi AFC a počtem získaných vajíček u dárekýň popisuje Vrontikis et al. (Vrontikis, 2010), tito autoři také našli souvislost mezi AFC pokračující graviditou u příjemkyň. Riggs et al. (Riggs, 2011) dávají do korelace AMH a reakci vaječnicků na stimulaci u dárekýň vajíček, korelace s kvalitou embryí a pokračující graviditou nebyla prokázána, navíc metaanalýza provedená Reshefem et al. (Reshef, 2015) prokázala jen slabou souvislost mezi AMH a pokračující graviditou. Reijnders et al. (Reijnders, 2016) studovali souvislost mezi těhotenskými výsledky IVF cyklů a hladinou AMH žen s extrémně nízkou ovariální rezervou, ve skupině s vyšším AMH prokázali lepší prognózu, co se týká gravidity. Do výsledků však zahrnuli i pacientky, jimž nebyl proveden embryotransfer (nebyl získán oocyt nebo se zastavila embrya ve vývoji), jedná se tedy spíše o vliv malého počtu oocytů, případně zrušených cyklů. Nelson et al. (Nelson, 2015) našli signifikantně silnější vazbu mezi hladinou AMH a reakcí na stimulaci FSH ve srovnání s AFC v agonistickém i antagonistickém stimulačním protokolu. Na rozdíl od naší práce našli opačnou souvislost mezi AMH a MII oocyty, která byla silnější než u AFC a MII oocyty. Autor této disertační práce prokázal naopak silnější korelaci mezi AFC a počtem MII oocytů. Pin-Yao et al. (Pin-Yao, 2014) sledovali u mladých žen do 35 let souvislost mezi AMH a ziskem oocytů a těhotenskými výsledky IVF cyklů. Nízké AMH statisticky významně souviselo s nižším celkovým počtem oocytů, počtem MII oocytů i s vyšší pravděpodobností zrušení IVF cyklu. Nicméně pravděpodobnost implantace na embryotransfer stejně tak jako pravděpodobnost narození dítěte byly v obou skupinách stejné. Z výše uvedeného je patrné, že jak AMH, tak AFC jsou zejména indikátory předpokládaného počtu získaných oocytů, jako předpovědní faktor kvality oocytů, kvality embryí a pokračující gravidity se neukázaly užitečné. Sahmay et al. (Sahmay, 2014) referují o vzájemné statisticky významné souvislosti mezi hladinou AMH a vyšší pravděpodobností pokračující gravidity u žen starších 35 let. Což opět souvisí spíše s vyšším počtem získaných vajíček při stimulaci FSH. Výše zmíněné studie, které hodnotily pravděpodobnost implantace a dávají ho do souvislosti s rostoucí hladinou AMH nezohledňují dostatečně fakt, že

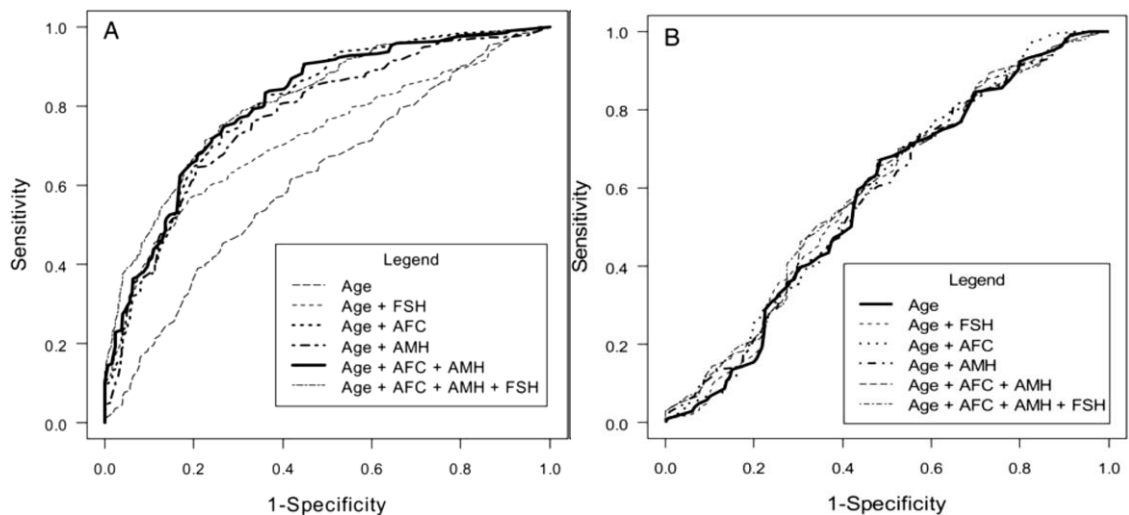
s vyššími bazálními hladinami AMH případně s větším počtem antrálních folikulů souvisí i vyšší počty získaných oocytů.

Broer et al. (Broer, 2013) provedli analýzu, ve které zkoumali užitečnost jednotlivých parametrů na předpověď ovariální reakce a také na předpověď vzniku gravidity na jeden IVF cyklus. Křivky níže ukazují, jakou výpovědní sílu mají jednotlivé parametry a jejich kombinace.

## 6.1 Algoritmy ke stanovení stimulační dávky FSH

Broer et al. prokázali, že žádný z parametrů nemá dostatečnou předpovědní sílu na to, aby mohl být použit samostatně. Proto jsou vyvíjeny a navrhovány nejrůznější algoritmy, které by měly usnadnit odhad dávky, případně z procesu stanovování stimulační dávky zcela eliminovat subjektivní faktor lékaře.

V roce 2017 byl uveden nový rekombinantní preparát follitropin delta (firma Ferring), který má být dávkován na základě kombinace parametrů AMH a hmotnosti pacientky. Firma Roche, která se také podílí na vývoji tohoto algoritmu, provedla analýzu hodnotící

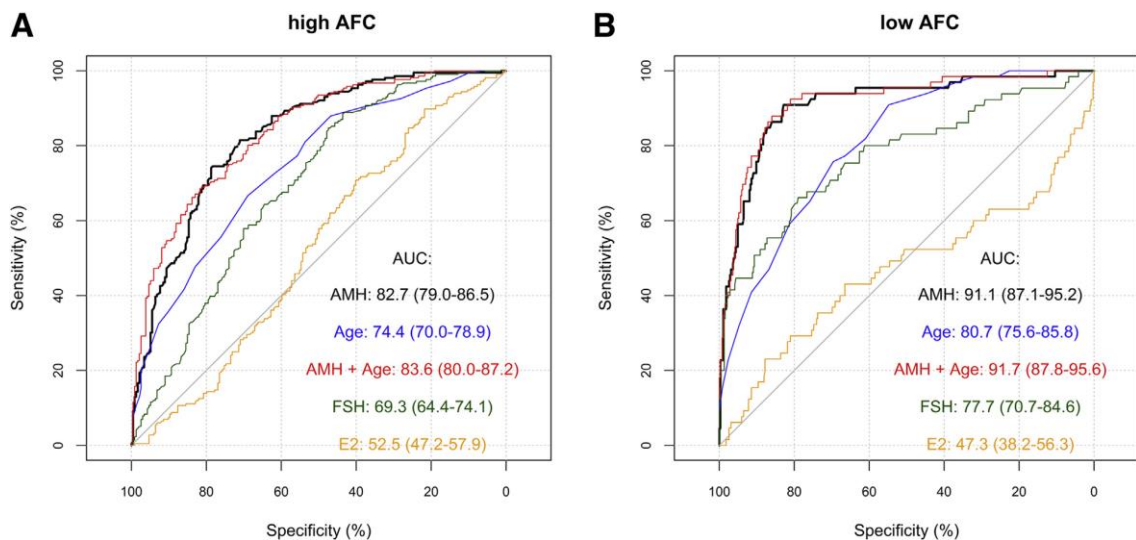


**Obrázek 13: Užitečnost jednotlivých testů při předpovědi POR**

*Graf A znázorňuje užitečnost jednotlivých testů při předpovědi POR, je patrné, že kombinace věku, AFC a AMH má velmi dobrou výpovědní hodnotu. Graf B ukazuje tytéž parametry a kombinace při předpovědi pokračující gravidity, je patrné, že všechny parametry i jejich kombinace nemají dobrou prediktivní schopnost, co se týká pokračující gravidity (Broer, 2013).*

užitečnost vyšetření hladiny AMH automatizovanou metodou Elecsys AMH (Anderson, 2015).

Z křivek je patrné, že FSH a estradiol mají AUC velmi malou a pro hodnocení reaktivity vaječnicků nejsou užitečné. O něco lepší parametr je věk, samotný však také příliš vhodným testem není. AMH proti tomu vykazuje velmi dobrou AUC, stejně tak kombinace parametrů AMH + věk. Protože křivky samotné AMH a AMH + věk jsou téměř shodné, v navrhovaném algoritmu pro stanovení dávky je používáno AMH samostatně, v úvahu je dále brána hmotnost pacientky.



**Obrázek 14: Užitečnost parametrů AMH, věk, FSH při předpovědi OHSS a POR**

*Obj.: Užitečnost parametrů AMH, věk, FSH při předpovědi OHSS a POR. Na obrázku (Anderson, 2015) je ROC křivka hodnotící užitečnost parametrů AMH, věku, FSH a estradiolu při předpokladu nízké reakce ovarií ( $AFC \leq 7$ ) a při předpokladu intenzivní reakce ovarií ( $AFC \geq 15$ ).*

V roce 2017 byly uveřejněny výsledky multicentrické studie Esther (Andersen, 2017), která srovnává výsledky konvenční stimulace se stimulací podle pevně stanoveného algoritmu dávkování. Za optimální reakci v této studii byl považován zisk 8 – 14 oocytů. Při použití algoritmu byla skupina optimálně stimulovaných pacientek statisticky významně větší než při konvenční stimulaci (43 % vs 38 %). Ve skupině s nízkým AMH bylo méně pacientek, které měly POR a ve skupině pacientek s vysokým AMH méně pacientek s excesivní reakcí vaječnicků a OHSS. V tabulce je patrný algoritmus, který byl používán v této studii. Je pravděpodobné, že algoritmus dávkování follitropinu delta po jeho uvedení na trh bude velmi



podobný nebo úplně stejný. Dále je z tabulky patrné, že je při stanovování dávky zcela vyloučen jakýkoliv subjektivní odhad. Další multicentrické studie budou nezbytné k potvrzení reálného efektu při širokém používání tohoto preparátu a dávkovacího algoritmu.

**Tab. 7: Dávkování follitropinu delta podle hodnot AMH a hmotnosti pacientky (Andersen, 2017)**

Sérová koncentrace AMH [pmol/l]	Denní dávka * (neměnná v průběhu stimulace)
<15	12 µg
15 – 16	0,19 µg/kg
17	0,18 µg/kg
18	0,17 µg/kg
19 – 20	0,16 µg/kg
21 – 22	0,15 µg/kg
23 – 24	0,14 µg/kg
25 – 27	0,13 µg/kg
28 – 32	0,12 µg/kg
33 – 39	0,11 µg/kg
≥40	0,10 µg/kg

\*Maximální denní dávka je 12 µg

## 6.2 Poradenství a plánování mateřství

V některých zemích např. v Dánsku již funguje odborné rodičovské poradenství. Smyslem tohoto typu poradenství je odhadnout, jestli je možné u konkrétního páru rodičovství ještě dále odkládat nebo jestli je v jejich případě vhodné otěhotnět co nejdříve. Nyboe Andersen z Kodaňské univerzitní nemocnice prezentoval jejich první zkušenosti s poradenstvím na kongresu Updates in infertility treatment v Lisabonu v roce 2016. Kromě osobního dotazníku sledujícího vlivy individuálního životního stylu je při poradenství zohledňována i hladina AMH, AFC a kvalita spermogramu u muže. Při poradenství je brán v úvahu také plánovaný počet potomků, ochota páru podstoupit případnou léčbu IVF a další parametry.

Prozatím je toto poradenství v Kodani financováno z grantů a je bezplatné. Podobných principů využívají také online placené služby, které pracují s osobním dotazníkem a hladinami AMH (např. rakouský Ivary). V tomto algoritmu je pracováno jednak s hodnotou AMH a dále s dotazníkovým šetřením, které zjišťuje věk, přítomnost gynekologických chorob, rodinnou anamnézu, délku a pravidelnost cyklu, abusus kouření a další parametry. Výsledkem pro testovanou ženu je grafické znázornění její aktuální situace a slovní komentář. Součástí tohoto online testu plodnosti je i hrubá předpověď věku, ve kterém může nastat menopauza.

Možností předpovědět příchod menopauzy se zabývají také některé studie (Tehrani, 2009), AMH se ukazuje jako vhodný parametr i k předpovědi předčasné menopauzy (Tehrani, 2011), nicméně přesný věk menopauzy není možné vždy v konkrétním případě individuálně určit.

### 6.3 Limity v interpretaci hodnot AMH a AFC

Velkou hrozbou pro přesnější kvantifikaci stimulační dávky FSH dle hladin AMH je velký rozptyl počtu získaných oocytů zejména ve skupině AMH 1,1 – 3,9 ng/ml (Ebner, 2006) a dále faktory, které mohou vést k falešně nižším hladinám AMH a které byly diskutovány v úvodní části o AMH. Zejména užívání antikoncepce může např. v dárcovských cyklech vést k podhodnocení reaktivity vaječníků a k následnému extrémnímu přestimulování. Nicméně současné trendy ve stimulačních protokolech jednoznačně směřují od protokolu agonistického k protokolu antagonistickému, při kterém je možno jako „záchrannou brzdu“ použít indukci ovulace agonistou GnRH, což zcela eliminuje riziko ovariálního hyperstimulačního syndromu. Freeze all strategie a přenos rozmraženého embrya následném cyklu, při současně dobře zavedených vitrifikačních technikách, má velmi dobré výsledky a nevede ke snížení pravděpodobnosti implantace.

V dárcovských cyklech autor nedoporučuje vůbec z bezpečnostních důvodů provádět indukci maturace oocytů pomocí preparátů obsahujících hCG. Je tedy dosti diskutabilní, jestli je v dárcovských cyklech při stanovování stimulační dávky FSH vůbec přínosem AMH testovat a nezvolit raději některé z dávkovacích schémat podle BMI.

Vzhledem k tomu, že OHSS může nastat i při hladinách AMH pod 3,9, nemůže být hladina AMH zcela spolehlivým vodítkem k jeho úplné eliminaci. Nicméně extrémně vysoké hladiny AMH by měly vést klinika k velmi opatrné stimulaci velmi nízkými dávkami FSH (např. 75 – 100 IU), standardní dávky kolem 175 jednotek by v těchto případech mohly vést k extrémním ziskům oocytů (>30), takové extrémní situace lze sice řešit podáním agonisty GnRH, nicméně samotná ovariální punkce je v těchto případech velmi invazivní a spojená s vyššími riziky (Ludwig, 2006), jako je krvácení, torze ovaria, případně nepřiměřená bolest po výkonu.

Algoritmy kombinující hladinu AMH s hodnotu AFC a ostatními parametry by mohly mít největší výhodu u pacientek s normálním rozmezím hladin (1,1 – 3,9 ng/ml). Zde přesné stanovení dávky může vést k optimálním výsledkům stimulace bez nutnosti odkladu přenosu embrya, což snižuje celkové náklady na léčbu a zkracuje dobu k dosažení gravidity.

Další skupina žen, která bude ze stanovení AMH jednoznačně profitovat, je skupina, která má hodnotu AMH pod 1,1 ng/ml. Zjištění takto nízké hodnoty AMH zbaví klinika strachu z přestimulování, a umožní tak použití vysoké dávky FSH (např. 300 IU denně), a je tak eliminováno poddávkování hned při prvním IVF cyklu.

Hladina AMH může být dobrým parametrem v poradenství ohledně plánování mateřství. Ve věkové kategorii 30 – 40 let vede zjištění nízké hladiny AMH k doporučení již mateřství neodkládat. Naopak při zjištění vyšších hladin může klinik indikovat u ženy nad 35 let expektační strategii léčby a nemusí předčasně indikovat IVF u páru s krátkou dobou snažení se o graviditu. Velmi obezřetně je v poradenství potřeba interpretovat hladiny AMH u mladých žen. U žen pod 20 let hladiny AMH ještě nedosáhly vrcholu. Navíc dosti často jsou ženy do 30 let uživatelkami kombinované orální kontracepce, která snižuje hladiny AMH o 30 – 50 %. Může tak dojít k mylnému diagnostikování ovariálního selhávání a ke stresu u testované ženy.

Posledním parametrem, který může ovlivnit interpretaci AMH je samotná vyšetřovací metoda. Při hodnocení vývoje hodnot AMH u téže ženy je potřeba zohlednit, jestli byly všechny vzorky hodnoceny stejnou laboratorní technikou, protože metoda Access AMH je méně senzitivní než novější Elecsys AMH Plus (Janatová, 2017).

## 6.4 Srovnání dostupnosti a praktické využití AMH a AFC

Zatímco měření AFC je možné prakticky kdykoliv při ambulantním ultrazvukovém vyšetření a výsledek je k dispozici okamžitě, AMH je spojeno s odběrem krve a jeho hodnotu se dozvíme zpravidla až po několika dnech. Kromě jisté invazivity je měření AMH spojeno také s náklady na laboratorní použití. Cena tohoto vyšetření se v současné době pohybuje kolem 500 Kč a náklady na jeho provedení jsou hrazeny pacientkou.

Hlavní nevýhodou AFC je subjektivní hodnocení a závislost na zkušenosti vyšetřujícího lékaře. Přesnost vyšetření je ovlivněna také kvalitou ultrazvukového přístroje, nicméně většina center používá moderní zařízení, která jsou spolehlivě schopná zobrazit i folikuly kolem velikosti 2 mm. AFC je také možné měřit kdykoliv v průběhu menstruačního cyklu, nicméně výsledek měření může být kolem ovulace negativně ovlivněn přítomností dominantního folikulu (případně žlutého tělíska), který může zastínit antrální folikuly a falešně snížit hodnotu AFC. AMH je do jisté míry exaktní hodnota a jak bylo výše zmíněno, lze ji považovat za konstantní v průběhu menstruačního cyklu. Obě vyšetření tak dobře vyhovují ambulantní praxi, protože ve většině případů není nutné znovu pacientky zvat na konkrétní den cyklu a zvyšovat tak počet návštěv v IVF centru. Pro výzkumné účely a pro možnost srovnání s výsledky ostatní prací je však důležité standardizované vyšetření prováděné 2. – 3. den cyklu, tzv. bazální hodnoty, toto pravidlo respektoval také autor studie.

## 6.5 Možnosti ovlivnění ovariální rezervy

Proces stárnutí vaječníků je procesem nezvratným. Vzhledem k demografickému vývoji je otázka možnosti ovlivnění nízké ovariální rezervy velmi aktuální a diskutovaná na všech odborných setkáních. Pacientky s nízkou ovariální rezervou jsou obvykle po několika neúspěšných stimulacích referovány k léčbě darovanými oocyty. Rozhodnutí pro tuto léčbu je stresující a náročné pro celý pár. I samotná odborná veřejnost si uvědomuje kompromisnost řešení pomocí dárcovských oocytů. Proto se pozornost výzkumných týmů obrací k možnosti alespoň částečně proces stárnutí vaječníků zvrátit. Vychází se z předpokladu, že samotné oocyty ve vaječniku přítomny jsou, podléhají však velmi intenzivní atrezii a nedosahují do stadia antrálních folikulů, které jsme schopni ovlivnit stimulací FSH. Jsou zkoumány regulace, které ovlivňují dozrávání oocytů do FSH senzibilních stadií a autoregulační

procesy. Navrhované léčebné postupy mají zasahovat právě do těchto preantrálních vývojových stadií.

Velmi nadějnou se stala aplikace transdermálního testosteronu nebo prekurzoru testosteronu – dehydroepiandrosteronu (DHEA). Princip léčby vychází z předpokladu, že androgeny mají na vaječníky efekt ve smyslu tvorby polycystických vaječnicků – Frattareli et al. (Frattareli, 2004) zjistili, že ženy s vyšší hladinou testosteronu a DHEA potřebovaly nižší stimulační dávky při IVF cyklu a našli také souvislost mezi vyšší hladinou androgenů a lepšími výsledky IVF léčby. V letech 2006 – 2011 (Barad, 2006; Gleicher, 2011) se objevilo několik převážně případových studií, v nichž pacientky léčené dlouhodobě preparáty DHEA vykazovaly po několika měsících léčby vyšší odpověď vaječnicků na stimulaci FSH. Objevila se vlna studií, které se tímto zabývaly, bohužel po rozsáhlejších metaanalýzách nebyl prokázán jednoznačný efekt této substance na zlepšení výsledků IVF u low responders (Narkwichean, 2013).

Autor disertace sám provedl studii na malém souboru zahraničních pacientek (DHEA je u nás zakázanou látkou bez možnosti preskripce), které medikovaly DHEA. U 27 pacientek vedlo podání DHEA ke statisticky významnému zvýšení zisku oocytů (z průměrného 1,7 oocytu na 4,2 oocytu na cyklus). U 9 pacientek, u nichž bylo sledováno AMH, došlo ke statisticky významnému zvýšení hladiny AMH (z 0,24 ng/ml na 0,42 ng/ml). Zvýšení počtu oocytů při stejné stimulaci před a po podávání DHEA bylo sice statisticky významné, nicméně v této malé studii nebyl hodnocen vliv DHEA na procento živě narozených dětí po IVF cyklu.

Podávání transdermálního testosteronu se ukázalo jako potenciálně účinné (Fábregues, 2009). Metaanalýza vícerých studií na toto téma sice prokázala také příznivý účinek této léčby, nicméně doporučuje výsledky interpretovat opatrně s ohledem na velkou heterogenitu zkoumaných studií a k jednoznačnému uzavření této problematiky doporučuje provedení dalších dobře postavených prospektivních studií (Luo, 2014). Další možností je pomocná léčba pomocí růstového hormonu (Keane, 2018). I v případě léčby růstovým hormonem autoři metaanalýzy potvrdili jeho pozitivní vliv na ovariální stimulaci u low responders, nicméně se opět dovolávají potřeby dobře organizovaných prospektivních studií.

Zdá se, že jednoduchá farmakologická léčba nebude v budoucnu klíčem k omlazení ovarií. Cesta alespoň k částečnému řešení problému ovariálního stárnutí vede zřejmě přes

metody molekulární biologie, přičemž se předpokládá, že bude nutné zasáhnout přímo do intracelulárních struktur. Nabízí se možnost ovlivnění exprese některých genů, jejichž inaktivace se podílí na procesech stárnutí (Templeman, 2018), využití kumulinu při aktivaci granulozových buněk a zlepšení kvality oocytů (Mottershead, 2015). Další možností je in vitro aktivace folikulů – přímo ze stádia primordiálního folikulu až do MII stadia oocytu (McLaughlin, 2018). Posledně zmíněná metoda se již posunula ze stadia bazálního výzkumu do reálné praxe (Zhai, 2016).

## 7 Závěr

V provedené studii byla nalezena statisticky významná souvislost mezi sérovou hladinou AMH, hodnotou AFC a počtem získaných oocytů po stimulaci rec. FSH v programu dárkovství oocytů.

AMH i AFC se ukázaly jako užitečné parametry pro predikci reakce vaječnicků na stimulaci FSH. AFC společně s AMH prokázaly souvislost mezi jejich hodnotami a počtem získaných oocytů MII; AMH je prediktivní i z hlediska celkového počtu získaných oocytů. Oba dva parametry autor doporučuje zahrnout do standardních vyšetřovacích schémat společně s věkem a hodnotou BMI před stanovením dávky FSH. Z jejich hodnocení budou profitovat zejména pacientky podstupující stimulaci před IVF, u kterých přesný odhad dávky a optimální stimulace umožní využít možnosti přenosu čerstvého embrya bez nutnosti průtahů spojených s freeze all strategií používanou při hrozícím OHSS. Na druhé straně při očekávané nízké reaktivitě ovaríí při nízkých hodnotách AMH a AFC je možné pacientky stimulovat hned při první stimulaci velmi vysokými dávkami FSH a hned při prvním cyklu mít maximální možný počet získaných oocytů. Jednoznačný profit naopak autor nevidí u odhadu dávky u dárkyň, vzhledem k tomu, že počet získaných oocytů při hladinách AMH 1,1 ng/ml – 3,9 ng/ml vykazuje značnou variabilitu a nelze se o něj spolehlivě opřít, přičemž OHSS je díky použití GnRH agonistů vyloučena. Již samotné AFC může v tomto případě dostatečně informovat o riziku přestimulování, a vést tak klinika k použití nižší dávky FSH.

Co se týká stanovení ovariální rezervy, jsou oba parametry vhodné k informování konkrétní ženy ohledně jejího aktuálního stavu a mohou posloužit jako vodítko při poradenství při plánování mateřství. Při hodnocení těchto parametrů u mladých žen je potřeba opatrné interpretace, přičemž oba dva mohou být negativně ovlivněny jak nízkým věkem, tak užíváním hormonální kontracepce. U žen nad 35 let mohou být vodítkem pro urychlení indikace IVF léčby, zejména u těch žen, u nichž je již ovariální rezerva hraniční.

## Summary

**Background:** In the context of social development of the 21st century, maternity is postponed to a higher age nearly in all developed countries in the world. Fertility specialists are asked by their patients how long their ovaries will work and how long they still can postpone maternity without exceeding their individual limit when it would not be possible to get pregnant. This is determined by so-called ovarian reserve. With the postponement of maternity, the increasingly frequent use of assisted reproduction techniques, including IVF, is also associated. Estimation of the correct dose of stimulation drugs in ovarian stimulation is essential for optimal oocyte gain.

It has been shown that dosage of the stimulation drugs by the weight of the patients, as is the case with other drugs, fails. The dependence of ovarian reactivity on age is a good guideline, but still insufficient for more accurate dose determination. Therefore, research has focused on finding appropriate parameters that would help to refine the predicted estimation of the number of obtained oocytes. These parameters are offered in a variety of ways, most notably the serum levels of pituitary follicle stimulating hormone (FSH), serum levels of substances produced by ovary – Inhibin, anti-Müllerian hormone (AMH) and ultrasound parameter the antral follicle count (AFC).

The Broekmans meta-analysis in 2006, focusing on parameters predictive of ovarian reactivity in FSH stimulation, found clinical utility only in AMH and AFC.

Author deals with AMH and AFC parameters in an attempt to determine their role in prediction of ovarian response to stimulation by recombinant FSH and examination of ovarian reserve.

**Objectives:** The aim is to find the connection between AMH, AFC and the number of oocytes obtained in rec. FSH stimulation in women at optimal reproductive age and consideration of AMH and AFC benefit in determining the ovarian reserve.

**Material and methods:** A prospective study in which women were first taken AMH, examined by AFC, and subsequently stimulated by rec. FSH. The dependence of total oocytes



and MII oocytes on AMH levels and AFC values was monitored. An experimental group of 61 women consisted of oocyte donors aged 20 – 33 years.

**Results:** It is statistically significant that with increasing AMH, the total number of oocytes obtained ( $P = 0.015$ ) is higher and the number of MII oocytes ( $P = 0.033$ ) is also increased. With growing AFC, the number of oocytes MII ( $P = 0.018$ ) significantly increases, with the total number of oocytes was not statistically significant ( $P = 0.127$ ).

**Conclusion:** A statistically significant correlation was found between the serum AMH level, the AFC value and the number of oocytes obtained after rec. FSH stimulation in the oocyte donation program. Both AMH and AFC have been shown to be useful parameters for prediction of ovarian response to FSH stimulation. AFC together with AMH have shown a correlation between their values and the number of MII oocytes obtained; AMH is also predictive of the total number of oocytes obtained. Both of these parameters are recommended to include in standard screening regimens along with age and BMI prior to FSH dose determination. From their assessment will profit individual IVF patients. Precise a dose and optimal stimulation will allow the use of the possibility of fresh embryo transfer without delay associated with freeze all strategies used in cases of ovarian overstimulation. On the other hand, with the expected low reactivity of the ovaries at low AMH and AFC levels, patients can be stimulated immediately during their first stimulation with very high doses of FSH and immediately in the first cycle they can have the maximum number of oocytes obtained.

Regarding the determination of the ovarian reserve, both parameters are appropriate for informing individual woman about her current condition and can serve as guidance in counselling when planning maternity.

**Key words:** Anti-Müllerian hormone (AMH), Antral follicle count (AFC), ovarian stimulation, ovarian reserve

## Použité prameny – odborná literatura

ANDERSEN NYBOE, Anders, Scott M. NELSON, Bart C. J. M. FAUSER, et al. Individualized versus conventional ovarian stimulation for in vitro fertilization: a multicenter, randomized, controlled, assessor-blinded, phase 3 noninferiority trial. *Fertility and Sterility* [online]. 2017, **107**(2), 387-396.e4 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2016.10.033. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028216629564>

ANDERSON, Richard A., Mikkel ROSENDAHL, Thomas W. KELSEY a David A. CAMERON. Pre-treatment anti-Müllerian hormone predicts for loss of ovarian function after chemotherapy for early breast cancer. *European Journal of Cancer* [online]. 2013, **49**(16), 3404-3411 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.ejca.2013.07.014. ISSN 09598049. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959804913005649>

ANDERSON, Richard A., Ellen ANCKAERT, Ernesto BOSCH, et al. Prospective study into the value of the automated Elecsys antimüllerian hormone assay for the assessment of the ovarian growing follicle pool. *Fertility and Sterility* [online]. 2015, **103**(4), 1074-1080.e4 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.01.004. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028215000394>

BANCSI, László F.J.M.M, Frank J.M BROEKMANS, Marinus J.C EIJKEMANS, Frank H DE JONG, J.Dik F HABBEMA a Egbert R TE VELDE. Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertility and Sterility* [online]. 2002, **77**(2), 328-336 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/S0015-0282(01)02983-1. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028201029831>

BALASCH, Juan, Montserrat CREUS, Francisco FÁBREGUES, Francisco CARMONA, Roser CASAMITJANA, Carlos ASCASO a Juan A. VANRELL. Inhibin, follicle-stimulating hormone, and age as predictors of ovarian response in in vitro fertilization cycles stimulated with gonadotropin-releasing hormone agonist - gonadotropin treatment. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* [online]. 1996, **175**(5), 1226-1230 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/S0002-9378(96)70032-7. ISSN 00029378. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002937896700327>

BARAD, David a Norbert GLEICHER. Effect of dehydroepiandrosterone on oocyte and embryo yields, embryo grade and cell number in IVF. *Human Reproduction* [online]. 2006, **21**(11), 2845-2849 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humrep/del254. ISSN 1460-2350. Dostupné z: <http://academic.oup.com/humrep/article/21/11/2845/2939179/Effect-of-dehydroepiandrosterone-on-oocyte-and>

BENTZEN, J.G., J.L. FORMAN, A. PINBORG, Ø. LIDEGAARD, E.C. LARSEN, L. FRIIS-HANSEN, T.H. JOHANNSEN a A. NYBOE ANDERSEN. Ovarian reserve parameters: a comparison between users and non-users of hormonal contraception. *Reproductive BioMedicine Online* [online]. 2012, **25**(6), 612-619 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.rbmo.2012.09.001. ISSN 14726483. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1472648312005329>

BHIDE, P, A GUDI, A SHAH a R HOMBURG. Serum anti-Mullerian hormone levels across different ethnic groups: a cross-sectional study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*[online]. 2015, **122**(12), 1625-1629 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1111/1471-0528.13103. ISSN 14700328. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/1471-0528.13103>

BROEKMANS, F.J., J. KWEE, D.J. HENDRIKS, B.W. MOL a C.B. LAMBALK. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Human Reproduction Update* [online]. 2006, **12**(6), 685-718 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humupd/dml034. ISSN 1460-2369. Dostupné z: <http://academic.oup.com/humupd/article/12/6/685/624882/A-systematic-review-of-tests-predicting-ovarian>

BROEKMANS, F. J., M. R. SOULES a B. C. FAUSER. Ovarian Aging: Mechanisms and Clinical Consequences. *Endocrine Reviews* [online]. 2009, **30**(5), 465-493 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1210/er.2009-0006. ISSN 0163-769X. Dostupné z: <https://academic.oup.com/edrv/article-lookup/doi/10.1210/er.2009-0006>

BROER, Simone L., Jeroen VAN DISSELDORP, Kimiko A. BROEZE, et al. Added value of ovarian reserve testing on patient characteristics in the prediction of ovarian response and ongoing pregnancy: an individual patient data approach. *Human Reproduction Update*[online]. 2013, **19**(1), 26-36 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humupd/dms041. ISSN 1460-2369. Dostupné z: <https://academic.oup.com/humupd/article/19/1/26/629243>

CIBULA, D. Řízení menstruačního cyklu. CIBULA, D. *Základy gynekologické endokrinologie*. Praha: Grada, 2002, s. 65-89. ISBN 80-247-0236-3.

D'AVILA, Ângela Marcon, Vanderlei BIOLCHI, Edison CAPP a Helena von Eye CORLETA. Age, anti-müllerian hormone, antral follicles count to predict amenorrhea or oligomenorrhea after chemotherapy with cyclophosphamide. *Journal of Ovarian Research* [online]. 2015, **8**(1), - [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1186/s13048-015-0209-4. ISSN 1757-2215. Dostupné z: <http://ovarianresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13048-015-0209-4>

SILVA, Joyce B da, Tatiana R PANAINO, Maria A TAMM, et al. Prediction of metaphase II oocytes according to different serum Anti-Müllerian hormone (AMH) levels in antagonist ICSI cycles. *JBRA Assisted Reproduction* [online]. 2016, **20**(4), 222-226 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.5935/1518-0557.20160043. ISSN 1518-0557. Dostupné z: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1518-0557.20160043>

DEMIRDJIAN, Gaiane, Stephanie BORD, Caroline LEJEUNE, Ryan MASICA, Dominique RIVIÈRE, Lucie NICOULEAU, Philippe DENIZOT a Pierre-Yves MARQUET. Performance characteristics of the Access AMH assay for the quantitative determination of anti-Müllerian hormone (AMH) levels on the Access\* family of automated immunoassay systems. *Clinical Biochemistry* [online]. 2016, **49**(16-17), 1267-1273 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2016.08.005. ISSN 00099120. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009912016301849>

DEEKS, Emma D. Elecsys® AMH Assay: A Review in Anti-Müllerian Hormone Quantification and Assessment of Ovarian Reserve. *Molecular Diagnosis & Therapy* [online]. 2015, **19**(4), 245-249 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1007/s40291-015-0156-1. ISSN 1177-1062. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s40291-015-0156-1>

DERYNCK, Rik a Ying E. ZHANG. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF- $\beta$  family signalling. *Nature* [online]. 2003, **425**(6958), 577-584 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1038/nature02006. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/nature02006>

DE VET, Annemarie, Joop S.E. LAVEN, Frank H. DE JONG, Axel P.N. THEMMEN a Bart C.J.M. FAUSER. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertility and Sterility* [online]. 2002, **77**(2), 357-362 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/S0015-0282(01)02993-4. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028201029934>

DURLINGER, Alexandra L. L., Piet KRAMER, Bas KARELS, Frank H. DE JONG, Jan Th. J. ULLENBROEK, J. Anton GROOTEGOED a Axel P. N. THEMMEN. Control of Primordial Follicle Recruitment by Anti-Müllerian Hormone in the Mouse Ovary 1. *Endocrinology* [online]. 1999, **140**(12), 5789-5796 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1210/endo.140.12.7204. ISSN 0013-7227. Dostupné z: <https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/endo.140.12.7204>

DURLINGER, A., J. VISSER a A. THEMMEN. Regulation of ovarian function: the role of anti-Müllerian hormone. *Reproduction* [online]. 2002, **124**(5), 601-609 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1530/rep.0.1240601. ISSN 1470-1626. Dostupné z: <http://www.reproduction-online.org/cgi/doi/10.1530/rep.0.1240601>

EDWARDS, Robert. Introduction: the beginnings of human in vitro fertilization. *Textbook of Assisted Reproductive Techniques: Laboratory and Clinical Perspectives*. 2nd. Londýn: Taylor and Francis, 2004, s. 1-15. ISBN 978-1841843131.

EBNER, T., M. SOMMERGRUBER, M. MOSER, O. SHEBL, E. SCHREIER-LECHNER a G. TEWS. Basal level of anti-Müllerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles. *Human Reproduction* [online]. 2006, **21**(8), 2022-2026 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humrep/del127. ISSN 1460-2350. Dostupné z: <http://academic.oup.com/humrep/article/21/8/2022/2938637/Basal-level-of-antiMüllerian-hormone-is-associated>

FABREGUES, F., J. PENARRUBIA, M. CREUS, D. MANAU, G. CASALS, F. CARMONA a J. BALSCH. Transdermal testosterone may improve ovarian response to gonadotrophins in low-responder IVF patients: a randomized, clinical trial. *Human Reproduction* [online]. 2009, **24**(2), 349-359 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humrep/den428. ISSN 0268-1161. Dostupné z: <https://academic.oup.com/humrep/article-lookup/doi/10.1093/humrep/den428>

FAN, Qing R. a Wayne A. HENDRICKSON. Structure of human follicle-stimulating hormone in complex with its receptor. *Nature* [online]. 2005, **433**(7023), 269-277 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1038/nature03206. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nature03206>

FANCHIN, R. Serum anti-Mullerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Human Reproduction* [online]. **18**(2), 323-327 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humrep/deg042. ISSN 14602350. Dostupné z: <https://academic.oup.com/humrep/article-lookup/doi/10.1093/humrep/deg042>

FERRARETTI, A. P., A. LA MARCA, B. C. J. M. FAUSER, B. TARLATZIS, G. NARGUND a L. GIANAROLI. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Human Reproduction* [online]. 2011, **26**(7), 1616-1624 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humrep/der092. ISSN 0268-1161. Dostupné z: <https://academic.oup.com/humrep/article-lookup/doi/10.1093/humrep/der092>

FICICIOGLU, Cem, Pinar Ozcan CENKSOY, Gazi YILDIRIM a Cigdem KASPAR. Which cut-off value of serum anti-Müllerian hormone level can predict poor ovarian reserve, poor ovarian response to stimulation and in vitro fertilization success? A prospective data analysis. *Gynecological Endocrinology* [online]. 2014, **30**(5), 372-376 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.3109/09513590.2014.887064. ISSN 0951-3590. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/09513590.2014.887064>

FRATTARELLI, John L, Andrew J LEVI, Bradley T MILLER a James H SEGARS. A prospective assessment of the predictive value of basal antral follicles in in vitro fertilization cycles. *Fertility and Sterility* [online]. 2003, **80**(2), 350-355 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/S0015-0282(03)00664-2. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028203006642>

FRATTARELLI, John L. a Elizabeth H. PETERSON. Effect of androgen levels on in vitro fertilization cycles. *Fertility and Sterility* [online]. 2004, **81**(6), 1713-1714 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2003.11.032. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028204002584>

GARCIA, Jairo E., Georgeanna Seegar JONES, Anibal A. ACOSTA a George WRIGHT. Human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin follicular maturation for oocyte aspiration: Phase II, 1981. *Fertility and Sterility* [online]. 1983, **39**(2), 174-179 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/S0015-0282(16)46815-9. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028216468159>

GLEICHER, Norbert a David H BARAD. Dehydroepiandrosterone (DHEA) supplementation in diminished ovarian reserve (DOR). *Reproductive Biology and Endocrinology* [online]. 2011, **9**(1), 67- [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1186/1477-7827-9-67. ISSN 1477-7827. Dostupné z: <http://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-7827-9-67>

GOLAN, Abraham a Ariel WEISSMAN. A modern classification of OHSS. *Reproductive Bio-Medicine Online* [online]. 2009, **19**(1), 28-32 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/S1472-6483(10)60042-9. ISSN 14726483. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1472648310600429>

GOUGEON, ALAIN. Regulation of Ovarian Follicular Development in Primates: Facts and Hypotheses. *Endocrine Reviews* [online]. 1996, **17**(2), 121-155 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1210/edrv-17-2-121. ISSN 0163-769X. Dostupné z: <https://academic.oup.com/edrv/article-lookup/doi/10.1210/edrv-17-2-121>

GRIESINGER, G., K. DIEDRICH, P. DEVROEY a E.M. KOLIBIANAKIS. GnRH agonist for triggering final oocyte maturation in the GnRH antagonist ovarian hyperstimulation protocol: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update* [online]. 2006, **12**(2), 159-168 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humupd/dmi045. ISSN 1460-2369. Dostupné z: <http://academic.oup.com/humupd/article/12/2/159/701426/GnRH-agonist-for-triggering-final-oocyte>

GROSSMAN, Michael P., Steven T. NAKAJIMA, Mary E. FALLAT a Yong SIOW. Müllerian-inhibiting substance inhibits cytochrome P450 aromatase activity in human granulosa lutein cell culture. *Fertility and Sterility* [online]. 2008, **89**(5), 1364-1370 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2007.03.066. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S001502820700788>

GRØNDAHL, M.L., M. Eilsø NIELSEN, M.B. DAL CANTO, R. FADINI, I.A. RASMUSSEN, L.G. WESTERGAARD, S.G. KRISTENSEN a C. YDING ANDERSEN. Anti-Müllerian hormone remains highly expressed in human cumulus cells during the final stages of folliculogenesis. *Reproductive BioMedicine Online* [online]. 2011, **22**(4), 389-398 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.rbmo.2010.12.005. ISSN 14726483. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1472648310007935>

HADLOW, Narelle, Katherine LONGHURST, Allison MCCLEMENTS, Jay NATALWALA, Suzanne J. BROWN a Phillip L. MATSON. Variation in antimüllerian hormone concentration during the menstrual cycle may change the clinical classification of the ovarian response. *Fertility and Sterility* [online]. 2013, **99**(6), 1791-1797 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.01.132. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S001502821300188X>

HAMPL, Richard, Marta ŠNAJDEROVÁ a Tonko MARDEŠIĆ. Antimüllerian hormone (AMH) not only a marker for prediction of ovarian reserve. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*. 2011, **60**(2), 217-223. [cit. 2018-04-14]. ISSN 1802-9973. Dostupné z: <http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/prepress/932076.pdf>

HENZL, M. Biosyntéza, metabolismus a mechanismus účinku ženských reprodukčních hormonů, antihormonů a eikosanoidů. CIBULA, D. *Základy gynekologické endokrinologie*. Praha: Grada, 2002, s. 19-47. ISBN 80-247-0236-3.

HOWLES, C. M., H. SAUNDERS, V. ALAM a P. ENGRAND. Predictive factors and a corresponding treatment algorithm for controlled ovarian stimulation in patients treated with recombinant human follicle stimulating hormone (follitropin alfa) during assisted reproduction technology (ART) procedures. An analysis of 1378 patients. *Current Medical Research and Opinion* [online]. 2006, **22**(5), 907-918 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1185/030079906X104678. ISSN 0300-7995. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1185/030079906X104678>

HUDSON, PETER L., IRENE DOUGAS, PATRICIA K. DONAHOE, RICHARD L. CATE, JAMES EPSTEIN, R. BLAKE PEPINSKY a DAVID T. MACLAUGHLIN. An Immunoassay to Detect Human Mullerian Inhibiting Substance in Males and Females during Normal Development\*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. 1990, **70**(1), 16-22 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1210/jcem-70-1-16. ISSN 0021-972X. Dostupné z: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem-70-1-16>

HYLDGAARD, Josephine, Pinar BOR, Hans Jakob INGERSLEV a Niels TØRRING. Comparison of two different methods for measuring anti-mullerian hormone in a clinical series. *Reproductive Biology and Endocrinology* [online]. 2015, **13**(1), - [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1186/s12958-015-0101-5. ISSN 1477-7827. Dostupné z: <http://www.rbej.com/content/13/1/107>



CHADA, Martin a Jiří BRONSKÝ. Inhibin B, follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, and estradiol and their relationship to the regulation of follicle development in girls during childhood and puberty. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca* [online]. 2003, **52**(3), 341-346 [cit. 2018-04-14]. ISSN 1802-9973. Dostupné z: [http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/52/52\\_341.pdf](http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/52/52_341.pdf)

CHANG, Ming-Yang, Chi-Hsin CHIANG, Tsung-Hong CHIU, T'sang-T'ang HSIEH a Yung-Kuei SOONG. The Antral Follicle Count Predicts the Outcome of Pregnancy in a Controlled Ovarian Hyperstimulation/Intrauterine Insemination Program. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* [online]. **15**(1), 12-17 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1023/A:1022518103368. ISSN 10580468. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1023/A:1022518103368>

CHANG M.D., Ming-Yang, Chi-Hsin CHIANG M.D., T'sang-T'ang HSIEH M.D., Yung-Kuei SOONG M.D. a Kuang-Hung HSU PH.D. Use of the Antral Follicle Count to Predict the Outcome of Assisted Reproductive Technologies. *Fertility and Sterility* [online]. 1998, **69**(3), 505-510 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/S0015-0282(97)00557-8. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028297005578>

CHUANG, Chih-Chi, Chin-Der CHEN, Kuang-Han CHAO, Shee-Uan CHEN, Hong-Nerng HO a Y.u-Shih YANG. Age is a better predictor of pregnancy potential than basal follicle-stimulating hormone levels in women undergoing in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* [online]. 2003, **79**(1), 63-68 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/S0015-0282(02)04562-4. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028202045624>

JANATOVÁ, Jana a Jaroslav LOUCKÝ. Není AMH, jako AMH, zejména v řízené ovariální stimulaci: Porovnání metod Elecsys plus a Access AMH v rámci spolupráce s několika IVF centry v České Republice. *Labor Aktuell* [online]. Roche Diagnostics, 2017, **2017**(3), 16-20 [cit. 2018-04-14]. Dostupné z: [http://www.rochediagnostics.cz/content/dam/diagnostics\\_czechrepublic/cs\\_CZ/documents/Labor\\_Aktuell/LA2017/LA03\\_17/AMH\\_Janatova.pdf](http://www.rochediagnostics.cz/content/dam/diagnostics_czechrepublic/cs_CZ/documents/Labor_Aktuell/LA2017/LA03_17/AMH_Janatova.pdf)

JEPPESEN, J. V., R. A. ANDERSON, T. W. KELSEY, et al. Which follicles make the most anti-Mullerian hormone in humans? Evidence for an abrupt decline in AMH production at the time of follicle selection. *Molecular Human Reproduction* [online]. 2013, **19**(8), 519-527 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/molehr/gat024. ISSN 1360-9947. Dostupné z: <https://academic.oup.com/molehr/article-lookup/doi/10.1093/molehr/gat024>

JI, J., Y. LIU, X. H. TONG, L. LUO, J. MA a Z. CHEN. The optimum number of oocytes in IVF treatment: an analysis of 2455 cycles in China. *Human Reproduction* [online]. 2013, **28**(10), 2728-2734 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humrep/det303. ISSN 0268-1161. Dostupné z: <https://academic.oup.com/humrep/article-lookup/doi/10.1093/humrep/det303>

JOST, Alfred. Recherches sur la differenciation sexuelle de l'embryon de lapin. *Archives D'Anatomie Microscopique Et De Morphologie Experimentale*. 1947, **36**, 271–315.

KAHRAMAN, Semra, Aylin Pelin ÇIL, Çağrı OĞUR, Altug SEMİZ a Cihangir YILANLIOĞLU. Probability of finding at least one euploid embryo and the euploidy rate according to the number of retrieved oocytes and female age using FISH and array CGH. *Journal of Reproductive Biotechnology and Fertility* [online]. 2016, **5**, 205891581665327- [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1177/2058915816653277. ISSN 2058-9158. Dostupné z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2058915816653277>

KALLIO, Sanna, Johanna PUURUNEN, Aimo RUOKONEN, Tommi VASKIVUO, Terhi PILTONEN a Juha S. TAPANAINEN. Antimüllerian hormone levels decrease in women using combined contraception independently of administration route. *Fertility and Sterility* [online]. 2013, **99**(5), 1305-1310 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2012.11.034. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028212024466>

KEANE, Kevin N., Peter M. HINCHLIFFE, Philip K. ROWLANDS, Gayatri BORUDE, Shanti SRINIVASAN, Satvinder S. DHALIWAL a John L. YOVICH. DHEA Supplementation Confers No Additional Benefit to that of Growth Hormone on Pregnancy and Live Birth Rates in IVF Patients Categorized as Poor Prognosis. *Frontiers in Endocrinology*[online]. 2018, **9**, - [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.3389/fendo.2018.00014. ISSN 1664-2392. Dostupné z: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2018.00014/full>

KELSEY, Thomas W., Phoebe WRIGHT, Scott M. NELSON, Richard A. ANDERSON, W. Hamish B WALLACE a Virginia J. VITZTHUM. A Validated Model of Serum Anti-Müllerian Hormone from Conception to Menopause. *PLoS ONE* [online]. 2011, **6**(7), e22024- [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1371/journal.pone.0022024. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0022024>

KIM, Jang Heub, David T. MACLAUGHLIN a Patricia K. DONAHOE. Müllerian inhibiting substance/anti-Müllerian hormone: A novel treatment for gynecologic tumors. *Obstetrics & Gynecology Science*[online]. 2014, **57**(5), 343- [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.5468/ogs.2014.57.5.343. ISSN 2287-8572. Dostupné z: <https://synapse.koreamed.org/DOIx.php?id=10.5468/ogs.2014.57.5.343>

KOLIBIANAKIS, E.M., C.A. VENETIS, K. DIEDRICH, B.C. TARLATZIS a G. GRIESINGER. Addition of growth hormone to gonadotrophins in ovarian stimulation of poor responders treated by in-vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update* [online]. 2009, **15**(6), 613-622 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humupd/dmp026. ISSN 1460-2369. Dostupné z: <https://academic.oup.com/humupd/article-lookup/doi/10.1093/humupd/dmp026>

KÖNINGER, Angela, Alexis KAUTH, Boerge SCHMIDT, Markus SCHMIDT, Guelen YERLIKAYA, Sabine KASIMIR-BAUER, Rainer KIMMIG a Cahit BIRDIR. Anti-Mullerian-hormone levels during pregnancy and postpartum. *Reproductive Biology and Endocrinology* [online]. 2013, **11**(1), 60- [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1186/1477-7827-11-60. ISSN 1477-7827. Dostupné z: <http://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-7827-11-60>

KOUSTA, E. Modern use of clomiphene citrate in induction of ovulation. *Human Reproduction Update* [online]. 1997, **3**(4), 359-365 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humupd/3.4.359. ISSN 1355-4786. Dostupné z: <https://academic.oup.com/humupd/article-lookup/doi/10.1093/humupd/3.4.359>

KUMAR, Pratap, Alok SHARMA, SameerFarouk SAIT a Mukesh KUMAR. Ovarian hyperstimulation syndrome. *Journal of Human Reproductive Sciences* [online]. 2011, **4**(2), 70- [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.4103/0974-1208.86080. ISSN 0974-1208. Dostupné z: <http://www.jhrsonline.org/text.asp?2011/4/2/70/86080>

LA MARCA, A., G. STABILE, A. Carducci ARTENISIO a A. VOLPE. Serum anti-Mullerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Human Reproduction* [online]. 2006, **21**(12), 3103-3107 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humrep/del291. ISSN 1460-2350. Dostupné z: <http://academic.oup.com/humrep/article/21/12/3103/2939153/Serum-antiMullerian-hormone-throughout-the-human>

LA MARCA, A., G. SIGHINOLFI, D. RADI, C. ARGENTO, E. BARALDI, A. C. ARTENISIO, G. STABILE a A. VOLPE. Anti-Mullerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Human Reproduction Update* [online]. 2010, **16**(2), 113-130 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humupd/dmp036. ISSN 1355-4786. Dostupné z: <https://academic.oup.com/humupd/article-lookup/doi/10.1093/humupd/dmp036>

LA MARCA, Antonio, Valentina GRISENDI a Georg GRIESINGER. How Much Does AMH Really Vary in Normal Women?. *International Journal of Endocrinology* [online]. 2013, **2013**, 1-8 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1155/2013/959487. ISSN 1687-8337. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/ije/2013/959487/>

LA MARCA, A. a S. K. SUNKARA. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice. *Human Reproduction Update* [online]. 2013, **20**(1), 124-140 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humupd/dmt037. ISSN 1355-4786. Dostupné z:

<https://academic.oup.com/humupd/article-lookup/doi/10.1093/humupd/dmt037>

LEE, M M, P K DONAHOE, T HASEGAWA, et al. Mullerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. 1996, **81**(2), 571-576 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1210/jcem.81.2.8636269. ISSN 0021-972X. Dostupné z:

<https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.81.2.8636269>

LEE, T.-H., C.-H. LIU, C.-C. HUANG, Y.-L. WU, Y.-T. SHIH, H.-N. HO, Y.-S. YANG a M.-S. LEE. Serum anti-mullerian hormone and estradiol levels as predictors of ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproduction technology cycles. *Human Reproduction* [online]. 2007, **23**(1), 160-167 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humrep/dem254. ISSN 0268-1161. Dostupné z: <https://academic.oup.com/humrep/article-lookup/doi/10.1093/humrep/dem254>

LÓPEZ, Eugenio, Salim DAYA, Juan J PARRILLA, Lorenzo ABAD, Juan BALASCH a Joanne GUNBY. Ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome: randomized trial of clomiphene citrate versus low-dose recombinant FSH as first line therapy. *Reproductive BioMedicine Online* [online]. 2014, **9**(4), 382-390 [cit. 2018-04-14]. ISSN 1472-6483. Dostupné z: [http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(10\)61273-4/pdf](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(10)61273-4/pdf)

LOY, See Ling, Yin Bun CHEUNG, Marielle Valerie FORTIER, et al. Age-related nomograms for antral follicle count and anti-Mullerian hormone for subfertile Chinese women in Singapore. *PLOS ONE*[online]. 2017, **12**(12), e0189830- [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1371/journal.pone.0189830. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0189830>

LUDWIG, A.K., M. GLAWATZ, G. GRIESINGER, K. DIEDRICH a M. LUDWIG. Perioperative and post-operative complications of transvaginal ultrasound-guided oocyte retrieval: prospective study of >1000 oocyte retrievals. *Human Reproduction* [online]. 2006, **21**(12), 3235-3240 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humrep/del278. ISSN 1460-2350. Dostupné z: <http://academic.oup.com/humrep/article/21/12/3235/2939110/Perioperative-and-postoperative-complications-of>

LUO, SHAN, SHANGWEI LI, XIAOHONG LI, LANG QIN a SONG JIN. Effect of pretreatment with transdermal testosterone on poor ovarian responders undergoing IVF/ICSI: A meta-analysis. *Experimental and Therapeutic Medicine* [online]. 2014, **8**(1), 187-194 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.3892/etm.2014.1683. ISSN 1792-0981. Dostupné z: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2014.1683>

MCLAUGHLIN, M, D F ALBERTINI, W H B WALLACE, R A ANDERSON a E E TELFER. Metaphase II oocytes from human unilaminar follicles grown in a multi-step culture system. *MHR: Basic science of reproductive medicine* [online]. 2018, **24**(3), 135-142 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/molehr/gay002. ISSN 1360-9947. Dostupné z: <https://academic.oup.com/molehr/article/24/3/135/4829657>

MOTTERSHEAD, David G., Satoshi SUGIMURA, Sara L. AL-MUSAWI, et al. Cumulin, an Oocyte-secreted Heterodimer of the Transforming Growth Factor- $\beta$  Family, Is a Potent Activator of Granulosa Cells and Improves Oocyte Quality. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 2015, **290**(39), 24007-24020 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1074/jbc.M115.671487. ISSN 0021-9258. Dostupné z: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M115.671487>

MUTTUKRISHNA, Shanthi, Harris SUHARJONO, Hugh MCGARRIGLE a Muttukrishna SATHANANDAN. Inhibin B and anti-Mullerian hormone: markers of ovarian response in IVF/ICSI patients?. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* [online]. 2004, **111**(11), 1248-1253 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1111/j.1471-0528.2004.00452.x. ISSN 14700328. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1471-0528.2004.00452.x>

MUTTUKRISHNA, S., H. MCGARRIGLE, R. WAKIM, I. KHADUM, D.M. RANIERI a P. SERHAL. Antral follicle count, anti-mullerian hormone and inhibin B: predictors of ovarian response in assisted reproductive technology?. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* [online]. 2005, **112**(10), 1384-1390 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1111/j.1471-0528.2005.00670.x. ISSN 14700328. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1471-0528.2005.00670.x>

NARKWICHEAN, Amarin, Walid MAALOUF, Bruce K CAMPBELL a Kannamannadiar JAYAPRAKASAN. Efficacy of dehydroepiandrosterone to improve ovarian response in women with diminished ovarian reserve: a meta-analysis. *Reproductive Biology and Endocrinology* [online]. 2013, **11**(1), 44- [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1186/1477-7827-11-44. ISSN 1477-7827. Dostupné z: <http://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-7827-11-44>

NELSON, Scott M., Frances STEWART, Richard FLEMING a Dilys J. FREEMAN. Longitudinal assessment of antimüllerian hormone during pregnancy—relationship with maternal adiposity, insulin, and adiponectin. *Fertility and Sterility* [online]. 2010, **93**(4), 1356-1358 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2009.07.1676. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028209034736>

NELSON, Scott M., Richard FLEMING, Marco GAUDOIN, Bokyoung CHOI, Kenny SANTO-DO-MINGO a Mylene YAO. Antimüllerian hormone levels and antral follicle count as prognostic indicators in a personalized prediction model of live birth. *Fertility and Sterility*[online]. 2015, **104**(2), 325-332 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.04.032. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028215003064>

NELSON, Scott M., Bjarke M. KLEIN a Joan-Carles ARCE. Comparison of antimüllerian hormone levels and antral follicle count as predictor of ovarian response to controlled ovarian stimulation in good-prognosis patients at individual fertility clinics in two multicenter trials. *Fertility and Sterility* [online]. 2015, **103**(4), 923-930.e1 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2014.12.114. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S001502821402545X>

OCAL, Pelin, Sezai SAHMAY, Meral CETIN, Tulay IREZ, Onur GURALP a Ismail CEPNI. Serum anti-Müllerian hormone and antral follicle count as predictive markers of OHSS in ART cycles. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* [online]. 2011, **28**(12), 1197-1203 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1007/s10815-011-9627-4. ISSN 1058-0468. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10815-011-9627-4>

PIN-YAO, Lin, Huang FU-JEN, Kung FU-TSAI, Chiang HSIN-JU, Lin YI-CHI a Lan KUO-CHUNG. Evaluation of serum anti-mullerian hormone as a biomarker of early ovarian aging in young women undergoing IVF/ICSI cycle. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology* [online]. 2014, **7**(9), 6245-6253 [cit. 2018-04-14]. ISSN 1936-2625. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4203247/pdf/ijcep0007-6245.pdf>

PLANTE, Beth J., Glinda S. COOPER, Donna D. BAIRD a Anne Z. STEINER. The impact of smoking on antimüllerian hormone levels in women aged 38 to 50 years. *Menopause* [online]. 2010, , 1- [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1097/gme.0b013e3181c7deba. ISSN 1072-3714. Dostupné z: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00042192-900000000-99289>

*PORODNOST A PLODNOST za období 2011 - 2015* [online]. Odbor statistiky obyvatelstva. Praha: Český statistický úřad, 2016 [cit. 2018-04-14]. Kód publikace: 130118-16 Č. j.: 02809 / 2016 – 61. Dostupné z: <https://www.czso.cz/documents/10180/32853427/13011816a.pdf/e7dad6a0-67af-40eb-bcf1-a47b36167dbe?version=1.0>

REIJNDERS, Igna F., Willianne L.D.M. NELEN, Joanna INTHOUT, Antonius E. VAN HERWAARDEN, Didi D.M. BRAAT a Kathrin FLEISCHER. The value of Anti-Müllerian hormone in low and extremely low ovarian reserve in relation to live birth after in vitro fertilization. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* [online]. 2016, **200**, 45-50 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2016.02.007. ISSN 03012115. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301211516300434>

Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility* [online]. 2004, **81**(1), 19-25 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2003.10.004. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S001502820302853X>

RIGGS, Ryan, Thomas KIMBLE, Sergio OEHNINGER, Silvina BOCCA, Yueqin ZHAO, Ben LEADER a Laurel STADTMAUER. Anti-Müllerian hormone serum levels predict response to controlled ovarian hyperstimulation but not embryo quality or pregnancy outcome in oocyte donation. *Fertility and Sterility* [online]. 2011, **95**(1), 410-412 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2010.07.1042. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028210021485>

ROMBAUTS, Luk. Is there a recommended maximum starting dose of FSH in IVF?. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* [online]. 2007, **24**(8), 343-349 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1007/s10815-007-9134-9. ISSN 1058-0468. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10815-007-9134-9>

ROQUE, Matheus, Marcello VALLE, Alessandra KOSTOLIAS, Marcos SAMPAIO a Selmo GEBER. Freeze-all cycle in reproductive medicine: current perspectives. *JBRA Assisted Reproduction* [online]. 2017, **21**(1), - [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.5935/1518-0557.20170012. ISSN 1518-0557. Dostupné z: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1518-0557.20170012>

ŘEŽÁBEK, K. Endokrinologické příčiny sterility. CIBULA, D. *Základy gynekologické endokrinologie*. Praha: Grada, 2002, s. 277-306. ISBN 80-247-0236-3.

ŘEŽÁBEK, Karel a Jitka JÍROVÁ. *Asistovaná reprodukce v České republice 2014* [online]. Praha: Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR ve spolupráci s Národním registrem asistované reprodukce, 2016 [cit. 2018-04-14]. ISBN 978-80-7472-148-9. Dostupné z: <https://www.uzis.cz/katalog/zdravotnicka-statistika/asistovana-reprodukce-cr>

SAHMAY, Sezai, Mahmut ONCUL, Abdullah TUTEN, Abdullah TOK, Abdullah Serdar ACIKGOZ a Ismail CEPNI. Anti-Müllerian hormone levels as a predictor of the pregnancy rate in women of advanced reproductive age. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*[online]. 2014, **31**(11), 1469-1474 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1007/s10815-014-0324-y. ISSN 1058-0468. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10815-014-0324-y>

SALMASSI, Ali, Liselotte METTLER, Jurgen HEDDERICH a Walter JONAT. Cut-Off Levels of Anti-Mullerian Hormone for The Prediction of Ovarian Response, In Vitro Fertilization Outcome and Ovarian Hyperstimulation Syndrome. *International Journal of Fertility and Sterility* [online]. 2015, **9**(2), 157-167 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.22074/ijfs.2015.4236. ISSN 20080778. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4518483/pdf/Int-J-Fertil-Steril-9-157.pdf>

SALMON, Nicholas A, Alan H HANDYSIDE a leuan M JOYCE. Oocyte regulation of anti-Müllerian hormone expression in granulosa cells during ovarian follicle development in mice. *Developmental Biology*[online]. 2004, **266**(1), 201-208 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.ydbio.2003.10.009. ISSN 00121606. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0012160603006237>

SCOTT, Richard T., James P. TONER, Suheil J. MUASHER, Sergio. OEHNINGER, Shirley. ROBINSON a Zev. ROSENWAKS. Follicle-stimulating hormone levels on cycle day 3 are predictive of in vitro fertilization outcome. *Fertility and Sterility* [online]. 1989, **51**(4), 651-654 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/S0015-0282(16)60615-5. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028216606155>

SCOTT, Richard T. a Glen E. HOFMANN. Prognostic assessment of ovarian reserve. *Fertility and Sterility*[online]. 1995, **63**(1), 1-11 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/S0015-0282(16)57287-2. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028216572872>



SEIFER, David B., Geralyn LAMBERT-MESSERLIAN, Joseph W. HOGAN, Alice C. GÁRDINER, Andrew S. BLAZAR a Carol A. BERK. Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. *Fertility and Sterility* [online]. 1997, **67**(1), 110-114 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/S0015-0282(97)81865-1. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028297818651>

SEIFER, David B., Elizabeth T. GOLUB, Geralyn LAMBERT-MESSERLIAN, et al. Variations in serum müllerian inhibiting substance between white, black, and Hispanic women. *Fertility and Sterility* [online]. 2009, **92**(5), 1674-1678 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2008.08.110. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028208038223>

TAL, Reshef, Oded TAL, Benjamin J. SEIFER a David B. SEIFER. Antimüllerian hormone as predictor of implantation and clinical pregnancy after assisted conception: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility* [online]. 2015, **103**(1), 119-130.e3 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2014.09.041. ISSN 00150282. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028214022237>

TEHRANI, Fahimeh Ramezani, Masoud SOLAYMANI-DODARAN a Fereidoun AZIZI. A single test of antimüllerian hormone in late reproductive-aged women is a good predictor of menopause. *Menopause* [online]. 2009, **16**(4), 797-802 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1097/GME.0b013e318193e95d. ISSN 1072-3714. Dostupné z: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00042192-200916040-00032>

TEHRANI, Fahimeh Ramezani, Nezhat SHAKERI, Masoud SOLAYMANI-DODARAN a Fereidoun AZIZI. Predicting age at menopause from serum antimüllerian hormone concentration. *Menopause* [online]. 2011, **18**(7), 766-770 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1097/gme.0b013e318205e2ac. ISSN 1072-3714. Dostupné z: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00042192-201107000-00008>

TEMPLEMAN, Nicole M., Shijing LUO, Rachel KALETSKY, Cheng SHI, Jasmine ASHRAF, William KEYES a Coleen T. MURPHY. Insulin Signaling Regulates Oocyte Quality Maintenance with Age via Cathepsin B Activity. *Current Biology* [online]. 2018, **28**(5), 753-760.e4 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.cub.2018.01.052. ISSN 09609822. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S096098221830085X>

TOMAS, C., S. NUOJUA-HUTTUNEN a H. MARTIKAINEN. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in-vitro fertilization. *Human Reproduction*[online]. 1997, **12**(2), 220-223 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humrep/12.2.220. ISSN 0268-1161. Dostupné z: <https://academic.oup.com/humrep/article-lookup/doi/10.1093/humrep/12.2.220>

UHLEN, M., L. FAGERBERG, B. M. HALLSTROM, et al. Tissue-based map of the human proteome. *Science* [online]. 2015, **347**(6220), 1260419-1260419 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1126/science.1260419. ISSN 0036-8075. Dostupné z: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1260419> In: Human Protein Atlas. Dostupné z: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000135409-AMHR2/tissue>

ULLOA-AGUIRRE, A. Structure-function relationship of follicle-stimulating hormone and its receptor. *Human Reproduction Update*[online]. 1998, **4**(3), 260-283 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humupd/4.3.260. ISSN 1355-4786. Dostupné z: <https://academic.oup.com/humupd/article-lookup/doi/10.1093/humupd/4.3.260>

VAN DER GAAST, MH, MJC EIJKEMANS, JB VAN DER NET, EJ DE BOER, CW BURGER, FE VAN LEEUWEN, BCJM FAUSER a NS MACKLON. Optimum number of oocytes for a successful first IVF treatment cycle. *Reproductive BioMedicine Online* [online]. 2006, **13**(4), 476-480 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/S1472-6483(10)60633-5. ISSN 14726483. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1472648310606335>

VAN DISSELDORP, J., C.B. LAMBALK, J. KWEE, C.W.N. LOOMAN, M.J.C. EIJKEMANS, B.C. FAUSER a F.J. BROEKMANS. Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-Mullerian hormone and antral follicle counts. *Human Reproduction* [online]. 2009, **25**(1), 221-227 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humrep/dep366. ISSN 0268-1161. Dostupné z: <https://academic.oup.com/humrep/article-lookup/doi/10.1093/humrep/dep366>

VAN ROOIJ, I.A.J. Serum anti-Mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Human Reproduction* [online]. **17**(12), 3065-3071 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1093/humrep/17.12.3065. ISSN 14602350. Dostupné z: <https://academic.oup.com/humrep/article-lookup/doi/10.1093/humrep/17.12.3065>

VRONTIKIS, Alaina, Peter L. CHANG, Peter KOVACS a Steven R. LINDHEIM. Antral follicle counts (AFC) predict ovarian response and pregnancy outcomes in oocyte donation cycles. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* [online]. 2010, **27**(7), 383-389 [cit. 2018-04-12]. DOI: 10.1007/s10815-010-9421-8. ISSN 1058-0468. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10815-010-9421-8>

WIWEKO, Budi, Dyah Mustikaning Pitha PRAWESTI, Andon HESTIANTORO, Kanadi SUMAPRAJA, Muharam NATADISASTRA a Ali BAZIAD. Chronological age vs biological age: an age-related normogram for antral follicle count, FSH and anti-Mullerian hormone. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* [online]. 2013, **30**(12), 1563-1567 [cit. 2018-04-12]. DOI: 10.1007/s10815-013-0083-1. ISSN 1058-0468. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10815-013-0083-1>

ZHAI, Jun, Guidong YAO, Fangli DONG, et al. In Vitro Activation of Follicles and Fresh Tissue Auto-transplantation in Primary Ovarian Insufficiency Patients. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. 2016, **101**(11), 4405-4412 [cit. 2018-04-12]. DOI: 10.1210/jc.2016-1589. ISSN 0021-972X. Dostupné z: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2016-1589>

## Použité prameny – legislativní dokumenty

Vyhláška č. 167/2017 Sb., Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 422/2008 Sb., o stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidských tkání a buněk určených k použití u člověka, ve znění vyhlášky č. 339/2012 Sb. a vyhlášky č. 45/2014 Sb.

Zákon č. 136/2017 Sb., Zákon, kterým se mění zákon č. 296/2008 Sb., o zajištění jakosti a bezpečnosti lidských tkání a buněk určených k použití u člověka a o změně souvisejících zákonů (zákon o lidských tkáních a buňkách), ve znění pozdějších předpisů.